



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

**DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE
COMPUESTOS DERIVADOS DE 2-AMINO-PROPANO-1,3-
DIOL POTENCIALMENTE ACTIVOS COMO ANTIVIRALES**

CLAUDIA MURIANA CAMACHO



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

**DISEÑO, SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE COMPUESTOS
DERIVADOS DE 2-AMINO-PROPANO-1,3-DIOL POTENCIALMENTE
ACTIVOS COMO ANTIVIRALES**

CLAUDIA MURIANA CAMACHO

Sevilla, 17 de junio de 2019

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Tutores: MARGARITA VEGA HOLM y JOSÉ MANUEL VEGA PEREZ

Tipología del proyecto: Experimental

Vº Bº MARGARITA VEGA HOLM

Vº Bº JOSÉ MANUEL VEGA PEREZ

RESUMEN

Los adenovirus (AdV) son virus eucariotas con 36000 pares de bases, producen infecciones que son muy comunes y se dan durante todo el año. Las poblaciones susceptibles a la infección por adenovirus (AdV) incluyen niños, pacientes inmunocomprometidos y reclutas militares. Afectan mucho al tracto respiratorio y al tracto alimentario de los niños, considerándose endémico en la población pediátrica. Hoy en día se encuentran más de 50 serotipos distintos distribuidos en siete especies (A-G), con distinto receptor y distinto tropismo, pertenecientes al género Mastadenovirus de la familia Adenoviridae. Los síntomas de las infecciones por HAdV son frecuentemente leves y pasajeras en pacientes sanos. Pero estas infecciones han ido preocupando en los últimos años debido a un número creciente de pacientes con el sistema inmune debilitado, en los cuales, la infección persiste. Los pacientes de trasplante de células madre hematopoyéticas y órganos sólidos son sometidos a regímenes inmunosupresores severos y no se puede eliminar eficazmente la infección por el virus. En estos pacientes, las infecciones por AdV pueden convertirse en infección diseminada y ser mortal. La única vacuna oral aprobada que comprende los tipos 4 y 7 de HAdV se ha utilizado en los EE. UU. militar durante 40 años, pero no ha sido aprobado para su uso en la población general. A pesar del impacto clínico significativo, actualmente no hay terapias antivirales aprobadas para las infecciones por adenovirus humanos (HAdV). Los investigadores están desarrollando nuevos agentes y reutilizando los existentes, como Cidofovir, Ribavirina y también otros compuestos no análogos de nucleosidos, así como realizando programas de reposicionamiento de fármacos. Este trabajo se centra en el diseño y síntesis de nuevos compuestos derivados del 2-aminopropano-1,3-diol, para poder comprobar su actividad frente a AdV. Para ello se han sintetizado y caracterizado dos precursores y cuatro productos finales que presentan rasgos estructurales que podrían conferir actividad anti-adenoviral.

Palabras clave: Adenovirus, Cidofovir, anti-adenoviral, Ribavirina, derivados de ureas

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AdV: adenovirus

HAdV: adenovirus humano

TP: proteína terminal

MLP: promotor tardío

ADNs: ADN de doble cadena

HAdV-3: adenovirus humano tipo 3

HAdV-7: adenovirus humano tipo 7

HAdV-B3, B4, B7: adenovirus humanos especie B y tipo 3, especie B y tipo 4, especie B y tipo 7

AdV 14: adenovirus 14

pTP: proteína preterminal

HAdV-C5: adenovirus humano especie C serotipo 5

HAdV-C6: adenovirus humano especie C serotipo 6

CMV: citomegalovirus

HCMV: citomegalovirus humano

VHC: virus hepatitis C

VRS: virus respiratorio sincitial

VHS: virus herpes simple

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

VIH-1: virus de inmunodeficiencia humana tipo 1

AdV-2: adenovirus tipo 2

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
2. ANTECEDENTES	13
3. OBJETIVOS	20
4. METODOLOGÍA.....	21
4.1. Métodos generales.....	21
4.2. Procedimiento para la obtención de ureas derivadas de 2-aminopropano-1,3-diol.....	21
4.2.1. 2-Amino-N-[(2-cloro-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (20)	22
4.2.2. 2-Amino-N-[(2,4-dimetoxi)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (21)	22
4.3. Procedimiento de obtención de los diésteres derivados.....	22
4.3.1. 2-Amino-N-[(2-clorofenil-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-1,3-di-O-4-metilbenzoil- propano-1,3-diol (22)	23
4.3.2. 2-Amino-N-[(2,4-dimetoxifenil)aminocarbonil]-1,3-di-O-4-metilbenzoil-propano-1,3-diol (23)	23
4.3.3. 2-Amino-N-2-clorofenil-5-trifluorometilfenilaminocarbonil-1,3-di-O-4-trifluorometilbenzoil-propano-1,3-diol (24)	24
4.3.4. 2-Amino-N-2,4-dimetoxifenilaminocarbonil-1,3-di-O-4-trifluorometilbenzoil-propano-1,3-diol (25)	25
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
5.1. Diseño de las moléculas objetivos. Análisis retrosintético	25
5.2. Síntesis de los precursores y de los productos finales	27
5.3. Caracterización estructural	29
6. CONCLUSIONES	31
7. REFERENCIAS	31
8. ANEXOS	35

1. INTRODUCCIÓN

Los adenovirus (AdV) son virus de ADN que generalmente causan infecciones leves que afectan al tracto respiratorio superior o inferior, al tracto gastrointestinal o la conjuntiva (Lynch and Kajon, 2016). Son eucariotas icosaedricos, no están envueltos (Graziano et al., 2013). Han sido reconocidos como patógenos comunes capaz de infectar una amplia gama de hospedadores, desde su descubrimiento en tejidos de adenoides humanos en 1953 (Malmberg et al., 2017). Son responsables de enfermedades que van desde infecciones respiratorias y oculares agudas hasta más graves, enfermedades entéricas, pero rara vez se asocian con síntomas clínicos graves en personas sanas (Sanchez-Cespedes et al., 2014). Puede causar un amplio espectro de enfermedades en niños y adultos, incluida la infección respiratoria aguda, gastroenteritis, queratoconjuntivitis epidémica. Las poblaciones susceptibles a la infección por AdV incluyen niños, pacientes inmunocomprometidos y reclutas militares (Chen and Tian, 2018). El número de infecciones por AdV diseminado continúa aumentando principalmente debido al uso creciente de tratamientos inmunosupresores. Los receptores de trasplantes de órganos sólidos o de células madre hematopoyéticas, principalmente en unidades pediátricas, presentan una alta morbilidad y mortalidad debido a estas infecciones (Sanchez-Cespedes et al., 2014). Hasta la fecha, se han identificado más de 50 tipos de AdV, y estos se clasifican en siete especies, A – G (Tabla 1). Históricamente, los AdV se clasificaron principalmente en base a la serología, su oncogenicidad en roedores y su capacidad para aglutinar glóbulos rojos humanos y animales (Arnberg, 2012). Las infecciones por AdV son muy comunes y pueden ocurrir durante todo el año. En particular, los niños se infectan comúnmente en el tracto respiratorio y en el tracto alimentario, y el AdV puede considerarse endémico en la población pediátrica. Pertenecen al género Mastadenovirus de la familia Adenoviridae. Los AdV se asocian con una amplia variedad de síntomas clínicos en los seres humanos, como la enfermedad respiratoria superior aguda, la gastroenteritis, la cistitis hemorrágica y la conjuntivitis. Una infección puede provocar una enfermedad grave, pero las infecciones por AdV suelen ser autolimitadas en individuos inmunocompetentes. En individuos inmunocomprometidos, la situación es bastante diferente. Para estas personas, incluidos los pacientes inmunodeprimidos para trasplante de células madre hematopoyéticas o de órganos sólidos, pacientes con SIDA y pacientes con inmunodeficiencias genéticas, una infección por AdV puede dar lugar a enfermedad diseminada y fallo multiorgánico. Se han informado tasas de letalidad por encima del 50% para niños inmunocomprometidos con

infecciones por AdV y en pacientes pediátricos con trasplante de médula ósea en particular, la incidencia de la infección por AdV es mayor que la de los adultos. (Öberg et al., 2012). Varios AdV diferentes han sido aislados de pacientes inmunocomprometidos, más frecuentemente de las especies A, B, o C. Los serotipos de las especies B están predominantemente asociados con síndromes renales, y los serotipos de la especie C son generalmente asociados a la hepatitis. En los últimos años, las infecciones con AdV serotipo 31 especie A se han informado cada vez más, y ocurren a menudo en pacientes con infecciones que involucran serotipos múltiples de AdV, ocasionalmente con un resultado letal (Andersson et al., 2010). Las infecciones virales de ADN de doble cadena (ADNs) constituyen una complicación importante después del trasplante de órganos sólidos y células madre (Camargo et al., 2016). Diferentes serotipos muestran diferentes tropismos tisulares y se correlacionan con manifestaciones clínicas de infección. Los serotipos predominantes difieren entre países o regiones y cambian con el tiempo (Lynch et al., 2011).

Tabla 1. Clasificación y características de adenovirus humanos (Arnberg, 2012)

Especies	Serotipos	Receptores	Tropismo
A	12,18,31	CAR	Respiratorio y entérico
B1	3,7,16,21,50	CD46,DSG2,CD80,CD86	Respiratorio y ocular
B2	11,14,34,35	11,14,34,35	Renal, respiratorio y ocular
C	1,2,5,6	CAR,VCAM-1,HSPG,MHC1- α 2,SR	Respiratorio, ocular, linfoide y hepático
D	8-10,13,15,17,19,20,22-30,32,33,36-39,42,49,51,53,54	SA,CD46,CAR	Entérico y ocular
E	4	CAR	Respiratorio y ocular
F	40,41	CAR	Entérico
G	52	ND	Entérico

Hay un problema con respecto a pacientes inmunocomprometidos, ya que cada vez este grupo crece más (Andersson et al., 2010). El adenovirus humano tipo 3 (HAdV-3) y adenovirus

humano tipo 7 (HAdV-7) causa una morbilidad significativa y desarrolla complicaciones graves y secuelas pulmonares a largo plazo en los niños. Sin embargo, los informes epidemiológicos han sugerido que casi todas las enfermedades adenovirales altamente graves o fatales en los niños están asociadas con HAdV-7 en lugar de HAdV-3. Los adenovirus humanos especie B y tipo 3, especie B y tipo 4, especie B y tipo 7 (HAdV-B3, B4, B7) y los tipos 14 y 55 recientemente resurgidos a menudo conducen a neumonía grave (Fu et al., 2019). La única vacuna oral aprobada que comprende los tipos 4 y 7 de adenovirus humanos (HAdV) se ha utilizado en los EE. UU. militar durante 40 años, pero no ha sido aprobada para su uso en la población general. Por lo tanto, actualmente no hay vacuna aprobada para uso general en niños y adultos. Y actualmente no existe una terapia antiviral eficaz contra AdV. Esto pone de relieve la necesidad de una vacuna con licencia desarrollada para prevenir brotes de infección por AdV (Chen and Tian, 2018). Un brote fue causado por el adenovirus 14 (AdV 14), un serotipo de AdV emergente en los Estados Unidos que se asocia con una mayor tasa de enfermedad grave en comparación con otros AdV. Entre los 46 casos identificados en el brote, las características observadas con mayor frecuencia fueron las siguientes: varón (70%), nativo de Alaska (61%), enfermedad pulmonar subyacente (44%), edad \geq 65 años (26%), y fumador actual (48%). Los pacientes de edad \geq 65 años tenían un riesgo cinco veces mayor de hospitalización. Los síntomas más comúnmente informados fueron tos (100%), dificultad para respirar (87%) y fiebre (74%). De los 11 pacientes hospitalizados, tres requirieron cuidados intensivos y uno requirió ventilación mecánica. Se reportó una muerte. Los aislamientos de AdV 14 obtenidos durante el brote fueron genéticamente idénticos a los de los brotes recientemente adquiridos en la comunidad en los Estados Unidos, lo que sugiere la aparición de una nueva variante de AdV 14, y posiblemente más virulenta. Los médicos deben considerar la infección por AdV 14 en el diagnóstico diferencial en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad, especialmente cuando se detectan grupos inexplicables de infecciones respiratorias graves (Kumaki et al., 2018).

En cuanto a la composición estructural y morfológica del AdV, como se puede ver en la (Figura 1), los AdV son de tamaño mediano (Kumaki et al., 2018), virus no envueltos de 70 a 90 nm de diámetro, con 10 proteínas estructurales (Hierholzer, 1992). Su estructura consiste en una cápside icosaédrica que se compone de tres componentes principales: hexón ubicado en las caras y bordes, el cual se observa como hexágonos en (Figura 1), pentón ubicado en los 12 ápices quintuples, el cual aparece en los vértices en (Figura 1) y fibras finas unidas en la base de pentón. Contiene también otras proteínas menores IIIa, VI, VIII y IX. Dentro de la capsida se encuentra la proteasa virión que desempeña un papel vital en el ensamblaje del virión y el

ADN de doble cadena. Genoma asociado con cinco polipéptidos como son: proteína terminal (TP), V, VII, Mu y IVa2 (Waye and Sing, 2010).

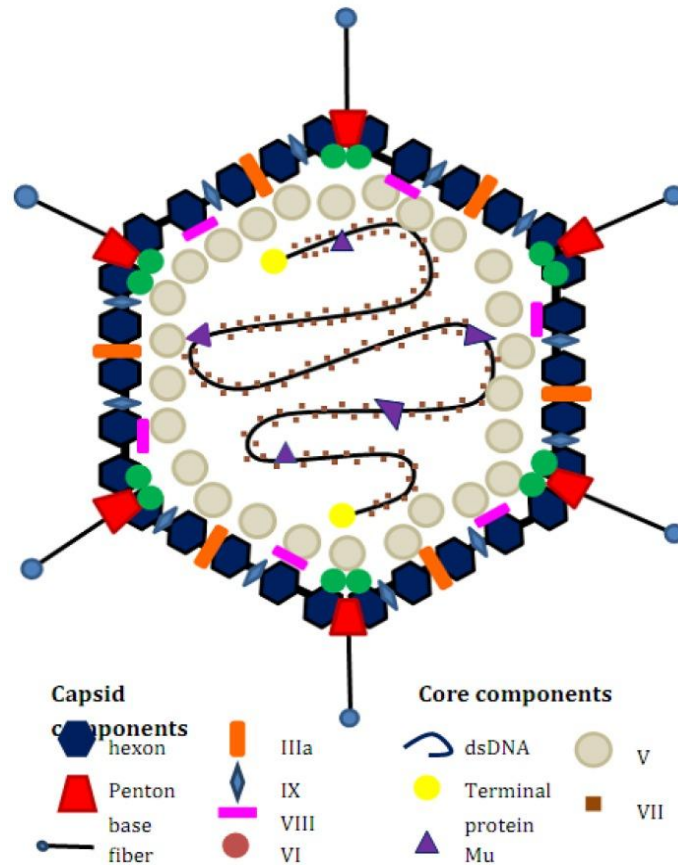


Figura 1. Composición estructural y morfológica del adenovirus (Waye and Sing, 2010)

Introduciendo al proceso biológico y de replicación del AdV, que se puede observar en la (Figura 2), la infección empieza con la unión de las fibras de la cápside del virus al receptor de la superficie de la célula huésped. La base de pentón interactúa con la proteína de superficie av integrinas que estimulan la entrada del virus a la célula huésped a través de la endocitosis. La acidificación del endosoma libera el virión en el citoplasma y el virión migra al núcleo. Una vez llegado al núcleo celular, tiene lugar la replicación que se divide en dos etapas: fase temprana y fase tardía (Waye and Sing, 2010). En la replicación del ADN se requieren tres proteínas esenciales: la ADN polimerasa viral, la proteína preterminal (pTP) y la proteína de unión al ADN, todos los cuales son objetivos potenciales para nuevos medicamentos antiadenovirales humanos (Martínez-Aguado et al., 2015).

La primera fase expresa proteínas reguladoras que activan otros genes de virus, para evitar la muerte prematura de células infectadas, y para alterar la expresión de proteínas del huésped para la síntesis de ADN. Una vez que están listos los componentes para la replicación del ADN,

empieza la fase tardía. El promotor tardío (MLP) media la transcripción de genes de virus tardíos que codifican las proteínas estructurales virales y proteínas para la maduración de partículas virales. El virus se ensambla en su virión y se libera para infectar otras células a través de la lisis celular inducida por el virus (Waye and Sing, 2010).

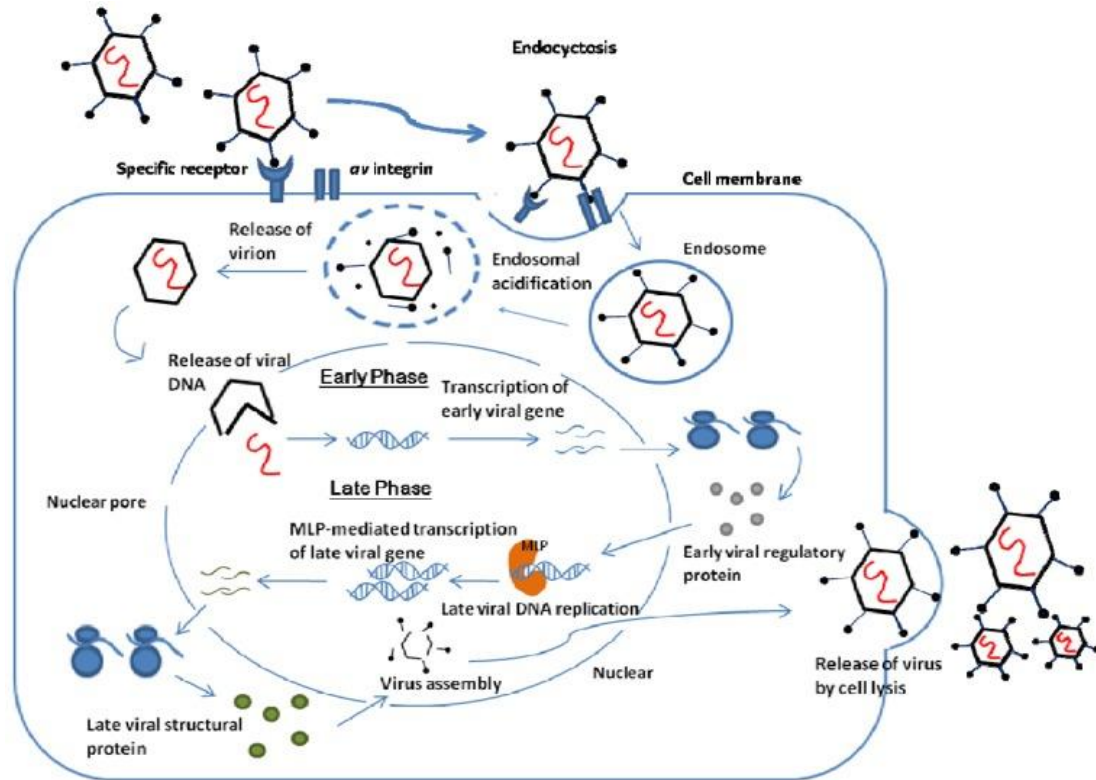


Figura 2. Proceso biológico y de replicación del adenovirus (Waye and Sing, 2010)

Respecto a la transmisión, las infecciones en el hospedador inmunocompetente generalmente son causadas por la exposición a individuos infectados por inhalación de gotitas en aerosol o por inoculación conjuntival directa, pero la transmisión también puede ocurrir por diseminación fecal-oral, incluido el contacto con agua dulce, tejido infectado, filtros de flujo de aire, o superficies ambientales (Lion, 2014). El adenovirus humano (HAdV) permanece infeccioso a temperatura ambiente hasta 3 semanas, incluso en ambientes sin humedad. Son estables a Ph bajo y resistentes a las secreciones gástricas y biliares, facilitando su transmisión (Matthes-Martin et al., 2013), por lo tanto, pueden detectarse en niveles altos en heces. Debido a que son virus no envueltos, son resistentes a muchos desinfectantes. El tratamiento de superficies con soluciones de alcohol (85 a 95%) durante 2 minutos o con hipoclorito de sodio durante 10 minutos es eficaz para inactivar el virus. La descontaminación eficiente de las superficies es de mucha importancia, especialmente en las unidades de trasplante y de cuidados intensivos, para prevenir este modo de transmisión en pacientes inmunodeprimidos (Lion, 2014).

Los métodos de diagnóstico disponibles para las infecciones por AdV son: cultivo viral, detección directa de antígenos, métodos moleculares e histopatología. La serología y la microscopía electrónica están disponibles, pero no se utiliza habitualmente en la práctica clínica. Los métodos de diagnóstico utilizados dependen del sitio de infección y la muestra recogida (Florescu and Schaenman, 2019). El cultivo celular convencional requiere mucho tiempo, los inmunoensayos enzimáticos y los cultivos celulares rápidos han demostrado ser menos sensibles que los ensayos basados en PCR. Hoy en día, se utiliza la PCR, establecida como una herramienta estándar para detección rápida, específica, cuantitativa y altamente sensible de HAdV en pacientes inmunocomprometidos (Matthes-Martin et al., 2013). Los AdV se encuentran dentro del grupo de patógenos que se consideran entre las principales causas de casos esporádicos y brotes de gastroenteritis aguda a nivel mundial. La identificación rápida y precisa de virus entéricos sigue siendo un desafío para el laboratorio clínico. La alta y total precisión, sensibilidad y especificidad diagnóstica de InGenius Gastrointestinal Viral Elite Panel, un nuevo ensayo multiplexado en tiempo real de RT-PCR multiplex de un solo paso que detecta AdV entre otros patógenos de los niños hospitalizados con gastroenteritis aguda. El ensayo InGenius Gastrointestinal Viral muestra una alta concordancia con los métodos de referencia y es capaz de detectar todos los genotipos de AdV (De Grazia et al., 2019).

El AdV siempre debe considerarse cuando los pacientes inmunocomprometidos presentan un síndrome clínico que podría ser compatible con la infección por AdV. Una vez que se sospecha la enfermedad, deben obtenerse cultivos o pruebas moleculares de muestras apropiadas y debe enviarse sangre para la reacción en cadena de la polimerasa del AdV (PCR) siempre que se sospeche de un AdV (Ison and Hayden, 2016).

2. ANTECEDENTES

Los síntomas de las infecciones por adenovirus humanos (HAdV) son generalmente leves y autolimitados. Sin embargo, estas infecciones han ido ganando importancia en los últimos años debido a un número creciente de pacientes inmunocomprometidos. Los pacientes de trasplante de células madre de órganos sólidos y hematopoyéticos están sujetos a regímenes inmunosupresores severos y no pueden eliminar eficazmente las infecciones por virus. En estos pacientes, las infecciones por AdV pueden convertirse en una enfermedad mortal diseminada por múltiples órganos (Wold et al., 2019). A pesar del importante impacto clínico, actualmente no hay terapias antivirales aprobadas para las infecciones por HAdV (Martínez-Aguado et al., 2015). Los investigadores han estado desarrollando nuevos agentes y reutilizando los existentes para tratar las infecciones por AdV. Hay varios medicamentos de

molécula pequeña que están siendo probados por su eficacia contra los HAdV. Algunos de ellos han llegado a ensayos clínicos, mientras que otros aún se encuentran en la fase preclínica. La disponibilidad de un modelo animal confirmó la actividad de algunos medicamentos que ya están en uso clínico, al tiempo que demuestra que otros están inactivos. El fármaco más utilizado para tratar las infecciones por HAdV es cidofovir (CDV, **1**, Figura 3) un análogo de la citosina, que está aprobado para tratar la retinitis por citomegalovirus (CMV). Su uso no está exento de problemas, debido a lo polar, debido a la naturaleza del grupo fosfato, a que la captación celular del fármaco es deficiente. Además de no entregar el compuesto a los órganos diana, esto resulta en una larga vida media en plasma. Como el CDV es un sustrato para el transportador de aniones orgánico 1, que prevalece en los túbulos renales, la exposición prolongada del riñón al fármaco da lugar a nefrotoxicidad (Wold et al., 2019). El CDV es activo contra el AdV en el cultivo de células y se usa con frecuencia en la clínica en pacientes pediátricos con trasplantes con infección diseminada. Sin embargo, no se han realizado estudios clínicos controlados para probar la eficacia anti-adenoviral del CDV (Tollefson et al., 2014). CDV tiene una nefrotoxicidad considerable, por lo que se recomienda solo para los casos más graves de infecciones por AdV (Toth et al., 2017). El CDV se usa por vía intravenosa en muchas clínicas de trasplantes, probablemente con algún efecto, pero no se han completado los ensayos controlados (Wold and Toth, 2015).

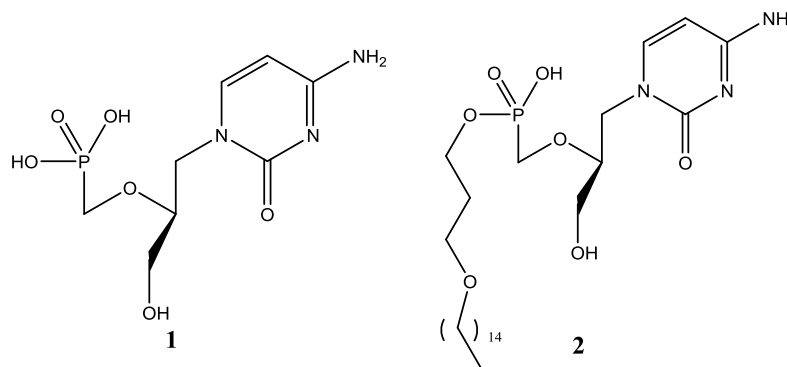


Figura 3. Estructura del cidofovir y del brincidofovir

Otras alternativas terapéuticas engloba a distintos análogos de nucleósidos. El brincidofovir (BCDV, **2**, Figura 3) es un conjugado lipídico de CDV disponible por vía oral con amplia actividad antiviral contra los virus de ADN de doble cadena (ADNs), incluidos los virus del herpes, AdV y poliomavirus, pero la experiencia clínica con este agente es limitada. Informamos de una mujer joven que desarrolló una infección mixta con AdV, CMV, virus de Epstein-Barr y poliomavirus BK después de un trasplante alogénico de células madre, y fue tratada con éxito con BCDV (Camargo et al., 2016). Tiene una actividad in vitro más potente contra los AdV y demostrada reducción de la replicación viral en un establecido modelo animal, junto con una reducción

sustancial de la mortalidad relacionada con AdV. A diferencia de CDV, el BCDV no se ha asociado con mielotoxicidad o nefrotoxicidad (Grimley et al., 2017).

Ganciclovir (GCV, **3**, Figura 4) un inhibidor de la ADN polimerasa viral (Frange and Leruez-Ville, 2018), es un análogo acíclico de la guanosina que se usa principalmente para controlar las infecciones por herpes virus (Ying et al., 2014). GCV, como CDV, es aprobado para tratar la retinitis por citomegalovirus humano (HCMV), y se utiliza para combatir las infecciones por HCMV en pacientes inmunodeprimidos con trasplantes y pacientes con SIDA. El Valganciclovir (VGCV, **4**, Figura 4) es el fármaco de elección para prevenir la infección por CMV después del trasplante de órganos sólidos porque tiene una disponibilidad oral mucho mejor que GCV (Toth et al., 2017). VGCV es un profármaco de GCV con 10 veces la biodisponibilidad de GCV (Frange and Leruez-Ville, 2018). El VGCV, demostró ser activo contra la infección por adenovirus humano especie C serotipo 5 (HAdV-C5) por vía intravenosa, y es eficaz contra el adenovirus humano especie C serotipo 6 (HAdV-C6) cuando se administra profilácticamente o terapéuticamente (Toth et al., 2017).

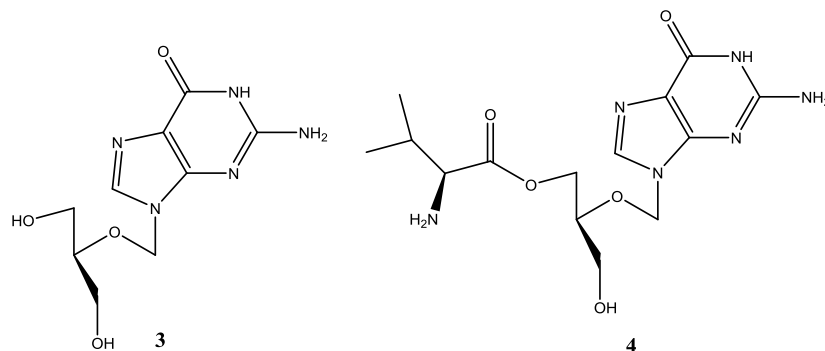


Figura 4. Estructura del ganciclovir y del valganciclovir

La ribavirina (**5**, Figura 5) es un análogo de nucleósido con un amplio espectro de actividad antiviral. Es activo contra el virus de influenza, virus de la hepatitis C (VHC), virus respiratorio sincitial (VRS), virus herpes simple (VHS) (Zhurilo et al., 2018). Informamos de un caso de neumonía grave por AdV que ocurre en un hombre sano que fue tratado con éxito con ribavirina oral (Yoon et al., 2017). Los nuevos análogos isostéricos de ribavirina se sintetizaron de dos maneras diferentes. Algunos de ellos mostraron una acción antiviral significativa contra el virus de la hepatitis C (VHC), el herpes simple y el virus de la influenza A, comparable al de la ribavirina. (Zhurilo et al., 2018). Pero, no se ha establecido la eficacia de la ribavirina para tratar las infecciones por HAdV (Wold et al., 2019).

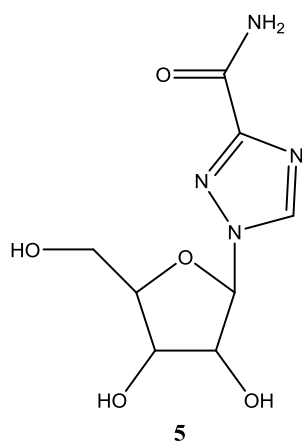


Figura 5. Estructura de la ribavirina

Otros nuevos compuestos análogos de nucleosidos se han descrito con actividad, entre otros filociclovir (6) y 6-azacitidina (7) que aparecen en la (Figura 6), se identificaron como compuestos activos después de probar una serie de compuestos in vitro (Wold et al., 2019).

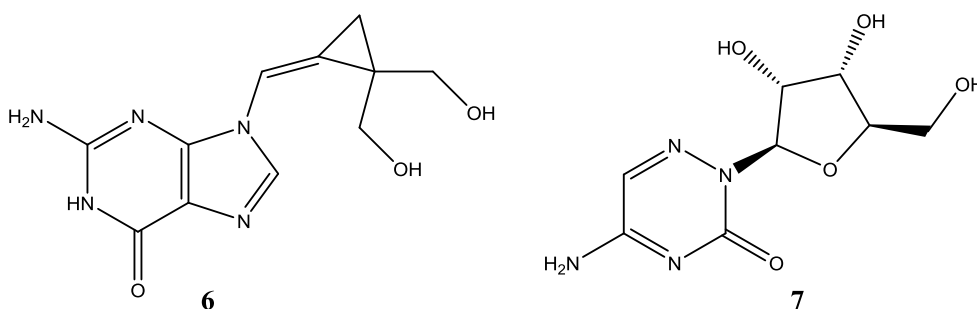


Figura 6. Estructura del filociclovir y de 6-azacitidina

El compuesto 5-aminouracilo y derivados de 5-amino-6-azauracilo, como son los compuestos (8), (9) y (10) que aparecen en la (Figura 7), demostraron ser altamente efectivos para suprimir la replicación de los HAΔV in vitro, mostrando actividad inhibitoria contra el HAΔV. Estos derivados son activos contra el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y el Virus de Epstein Barr (Nikitenko et al., 2018).

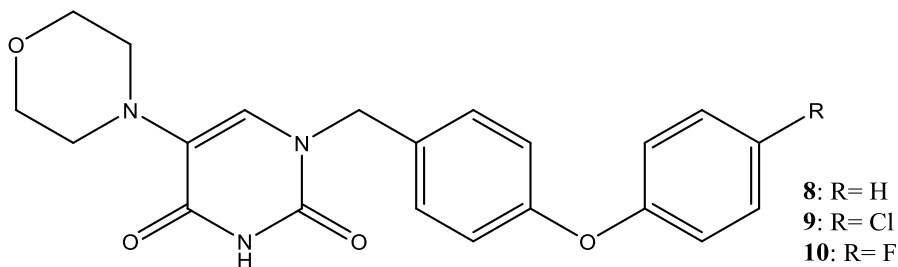


Figura 7. Compuestos derivados del 5-aminouracilo

Se construyó una serie de 1,2,3-triazolil-3-hidroxi-quinazolina-2,4 (1H, 3H) -diones utilizando un método de cicloadición de 1,3-dipolar (CuAAC) azida-alquino catalizado con cobre (Cu). Evaluándolas in vitro para determinar la actividad antiviral, varios compuestos mostraron una excelente actividad específicamente contra el virus vaccinia y el AdV. El compuesto (**11**), que se ve en la (Figura 8) fue el más potente contra el adenovirus tipo 2 (AdV-2) (Kang et al., 2016).

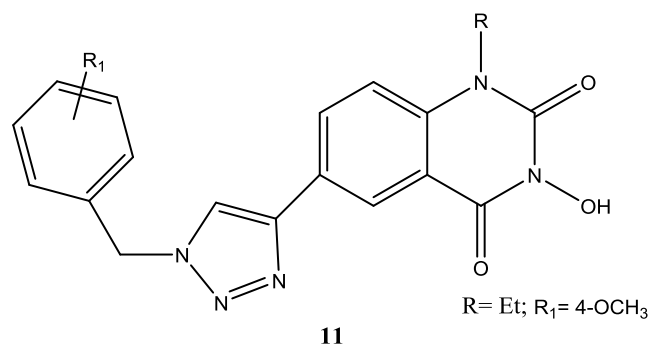


Figura 8. Compuesto **11**

El reposicionamiento de fármacos por parte de las agencias reguladoras para otras indicaciones está surgiendo como una alternativa valiosa para el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas, que conlleva menores riesgos y costos que el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos (Marrugal-Lorenzo et al., 2018). Los investigadores intentan reutilizar distintos medicamentos aprobados para otras indicaciones, con el fin de conseguir actividad antiadenoviral. Mifepristona (**12**, Figura 9), un fármaco esteroide sintético disponible en el mercado, mostró una actividad antiadenoviral humana in vitro significativa a bajas concentraciones micromolares con poca citotoxicidad. Ensayos sugieren que este medicamento podría afectar el transporte de microtúbulos, interfiriendo con la entrada del virus en el núcleo y, por lo tanto, inhibe la infección por HAdV (Marrugal-Lorenzo et al., 2018).

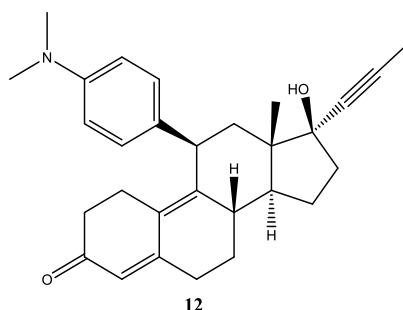


Figura 9. Estructura de mifepristona

Los AdV, que son patógenos humanos comunes, también son susceptibles a los glucósidos cardíacos como la digoxina (**13**) y la digitoxina (**14**) (Figura 10), que son capaz de alterar la replicación del genoma de AdV mediante la alteración de la maquinaria de

empalme de ARN previo del huésped (Amarelle and Lecuona, 2018). Inhibió la replicación de AdV (Wold et al., 2019).

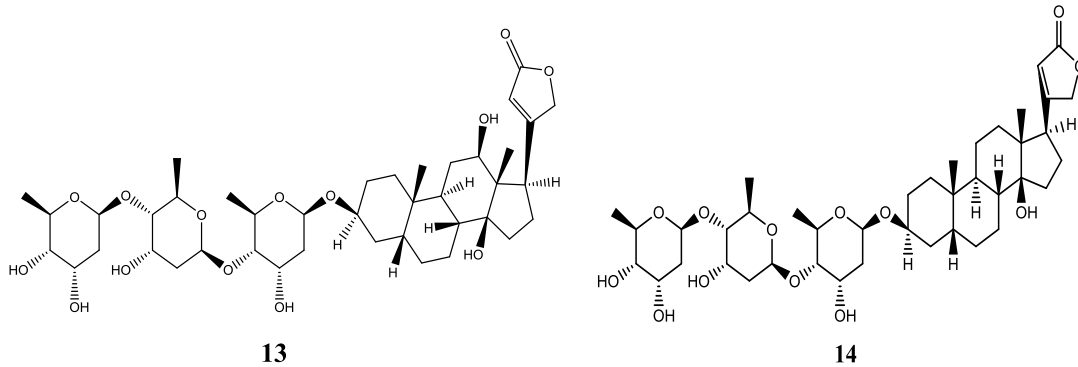


Figura 10. Estructura de digoxina y digitoxina

Los fármacos antihelmínticos derivados de salicilanilida restringen la infección por HCMV. Mostraron una actividad antiadenoviral significativa a concentraciones micromolares bajas con poca citotoxicidad. Los ensayos muestran diferencias en la forma en que los medicamentos ejercen la actividad antiadenoviral. Niclosamida (**15**) y rafoxanida (**16**) (Figura 11) dirigen el transporte de la partícula de HAdV desde el endosoma a la envoltura nuclear, mientras que la oxiclozanida (**17**) (Figura 11) se dirige específicamente al AdV inmediatamente antes de la transcripción del gen E1A (Marrugal-Lorenzo et al., 2019).

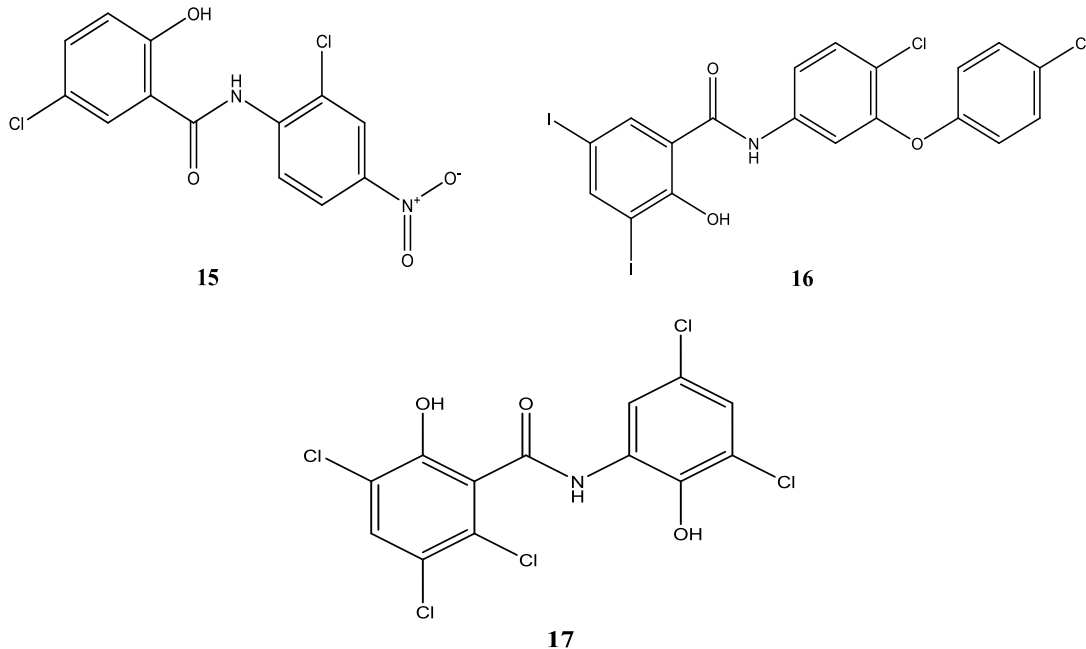


Figura 11. Estructura de niclosamida, rafoxanida y oxiclozanida

Se identificó que los fenoles en el extracto de té negro y dioscina, un compuesto extraído de la papa del aire tienen actividad contra HAdV in vitro (Wold et al., 2019).

El grupo de investigación donde se ha desarrollado este Trabajo de Fin de Grado, en colaboración con el grupo del Dr. Javier Sánchez Céspedes del Instituto de Biomedicina de Sevilla, trabaja en el diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevos compuestos con posible actividad antiadenovirus. Está centrado en la búsqueda de nuevos prototipos que puedan presentar actividad biológica y puedan servir como punto de partida para el desarrollo de nuevos candidatos a fármacos. En este sentido han descrito dos tipos de estructuras, basadas en esqueletos de piperazin-2-ona (Sanchez-Céspedes et al., 2014) y piperazinas 2-sustituidas (Sánchez-Céspedes et al., 2016), obteniendo nuevos compuestos, algunos de los cuales están siendo evaluados en modelo animal. Dentro de esta línea, el grupo está trabajando en la búsqueda de compuestos que puedan ser análogos al cidofovir. En nuestra aproximación para modificar el esqueleto del cidofovir distinguimos tres puntos de variabilidad estructural: La cadena acíclica de tres átomos de carbono (que puede considerarse que proviene del 3-amino-1,2-propanodiol, el grupo fosfonato en el alcohol secundario, y la base nitrogenada inserta en el nitrógeno terminal de la cadena (Figura 12).

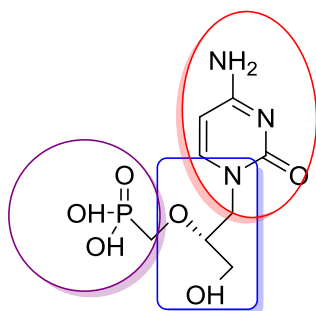


Figura 12. Análisis de los puntos de variabilidad estructural en el cidofovir

Se están preparando análogos al Cidofovir basados en el reemplazo de la parte nitrogenada y el grupo fosfonato, manteniendo en una primera aproximación el esqueleto central de 3-amino-propano-1,2-diol y en otra se empleará como esqueleto el isómero de posición serinol (2-amino-propano-1,3-diol).

El trabajo realizado en este Trabajo de Fin de Grado se encuadra en esta segunda aproximación. Se emplean como prototipos los compuestos **(18)** y **(19)** que presentan 66% y 25% de inhibición de la replicación viral respectivamente, resultados previos del grupo en esta línea de trabajo (Figura 13).

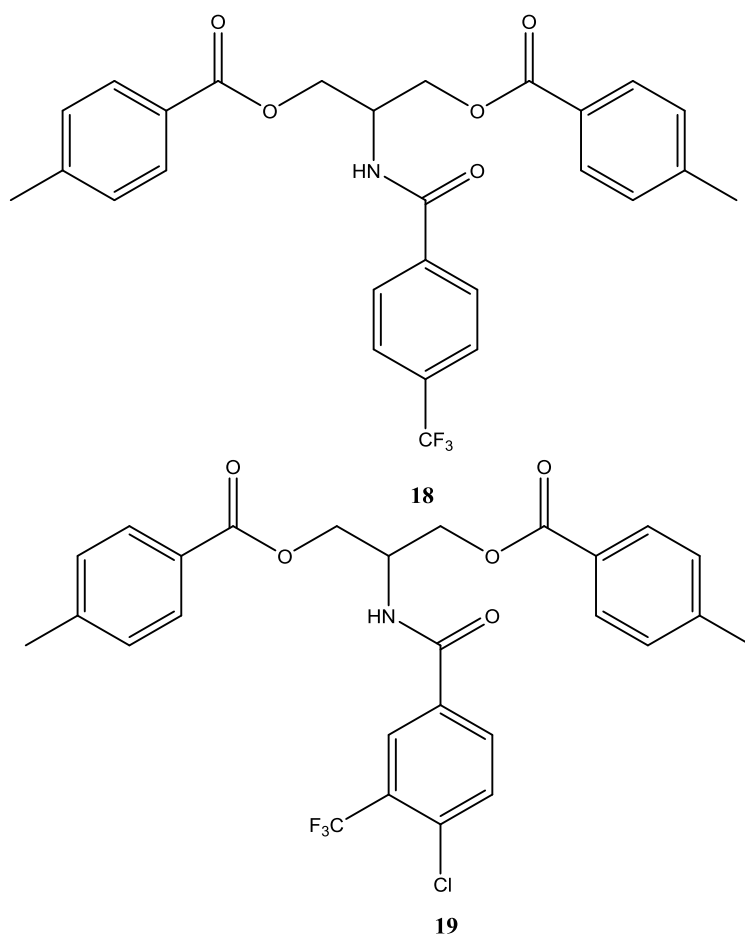


Figura 13. Estructuras de los compuestos **18** y **19** escogidos como prototipos

3. OBJETIVOS

El presente Trabajo Fin de Grado (TFG) se engloba dentro de una de las líneas de investigación llevada a cabo en el Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica, basada en la búsqueda, diseño, síntesis y caracterización de nuevos compuestos con potencial actividad anti-adenoviral. Se plantean tres objetivos parciales con el fin de conseguir una meta final, que es la obtención de una serie de análogos de compuestos activos, mediante la introducción de modificaciones en su estructura.

1) **Diseño de nuevos compuestos.** En base a las estructuras de los prototipos escogidos (compuestos **18** y **19**) resultados anteriores de la propia línea de investigación, se plantea el diseño de los nuevos compuestos basados en el esqueleto de serinol y mediante introducción de modificaciones en la función urea y en los sustituyentes del anillo aromático en la función éster.

2) **Síntesis química de los nuevos compuestos diseñados.** Emplear una metodología sintética, sencilla y corta que transcurra con elevado rendimiento y que permita obtener en el menor número de pasos posible una pequeña colección de compuestos análogos.

3) **Caracterización de los nuevos compuestos.** Los nuevos compuestos obtenidos se someten a estudios que permiten confirmar la estructura propuesta. Como son la realización de sus espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear. Para alcanzar este objetivo se cuenta con la colaboración de los Servicios de Espectrometría de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear, respectivamente, del CITIUS de la Universidad de Sevilla.

4. METODOLOGÍA

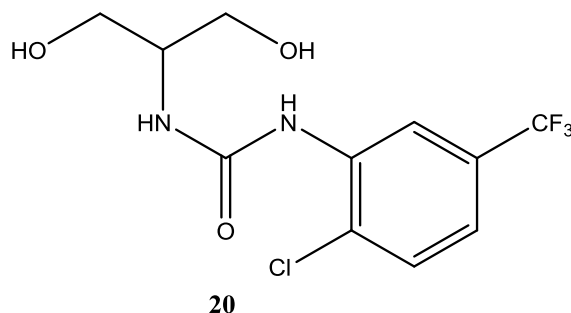
4.1. Métodos generales

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 (CCF) 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 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 ¹H y 125 MHz para ¹³C. Los desplazamientos químicos están expresados en ppm en la escala relativa al tetrametilsilano (TMS).

4.2. Procedimiento para la obtención de ureas derivadas de 2-aminopropano-1,3-diol

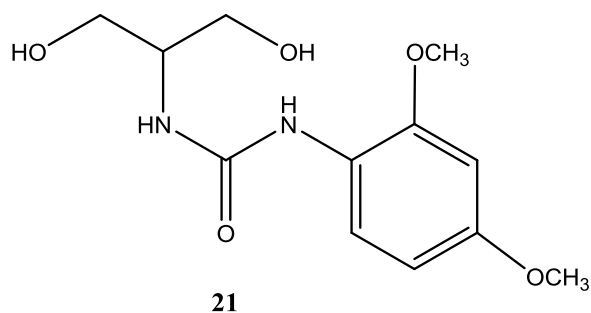
A una disolución del correspondiente isocianato (3,6 mmol, 1,2 equivalentes) en diclorometano seco (15 ml), se adiciona gota a gota una disolución de 2-aminopropano-1,3-diol (3 mmol, 1 equivalente) en metanol (1ml), manteniéndose en agitación a temperatura ambiente, hasta que la cromatografía en capa fina indica que el producto de partida ha reaccionado.

4.2.1. 2-Amino-N-[(2-cloro-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**20**)



El producto precipita en el medio de reacción, y se aísla mediante filtración. Se resuspende en éter, manteniéndose en agitación dos horas. La filtración proporciona un producto cromatográficamente puro (512 mg, 56% rendimiento); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8,67 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,64 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,28-7,26 (m, 2H), 4,72 (bs, 2H), 3,69-3,62 (m, 1H), 3,55-3,42 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 154,4, 137,8, 130,2, 124,3, 118,1, 116,2, 116,1,, 60,1, 52,9. HRMS (m/z): calcd. para $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_3\text{ClNa}$ 335,0381 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; encontrado 335,0381.

4.2.2. 2-Amino-N-[(2,4-dimetoxi)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**21**)



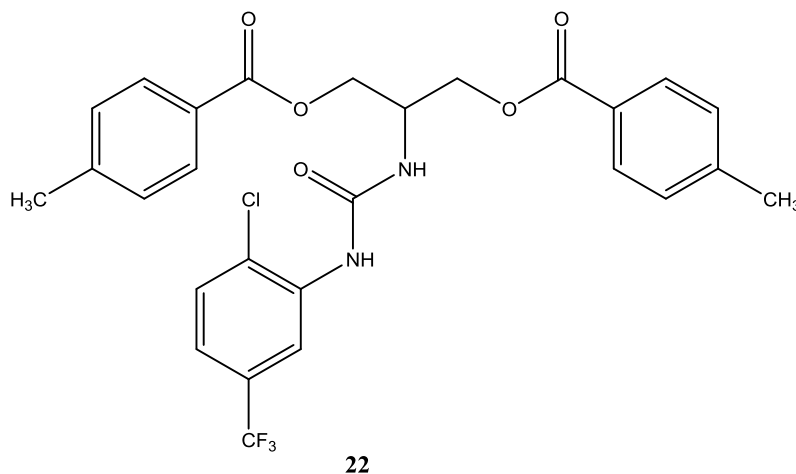
Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (20:1) como eluyente (719 mg, 89 % rendimiento); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7,87 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,56 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 6,43 (dd, $J = 1,8$ Hz, $J = 8,7$ Hz, 1H), 4,64 (t, $J = 4,7$ Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,64-3,57 (m, 1H), 3,51-3,38 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 154,3, 154,2, 148,9, 122,9, 119,5, 104,0, 98,7, 60,5, 55,6, 55,2, 52,9. HRMS (m/z): calcd. para $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 293,1108 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; encontrado 293,1112.

4.3. Procedimiento de obtención de los diésteres derivados

A una disolución del precursor (0,5 mmol, 1 eq) en diclorometano seco (30ml) se adiciona 4-dimetilaminopiridina (1,25 mmol, 2,5 eq), y se añade el correspondiente cloruro de acilo (1,1 mmol, 2,2 eq) disuelto en diclorometano (2 ml). Se deja en agitación a temperatura ambiente

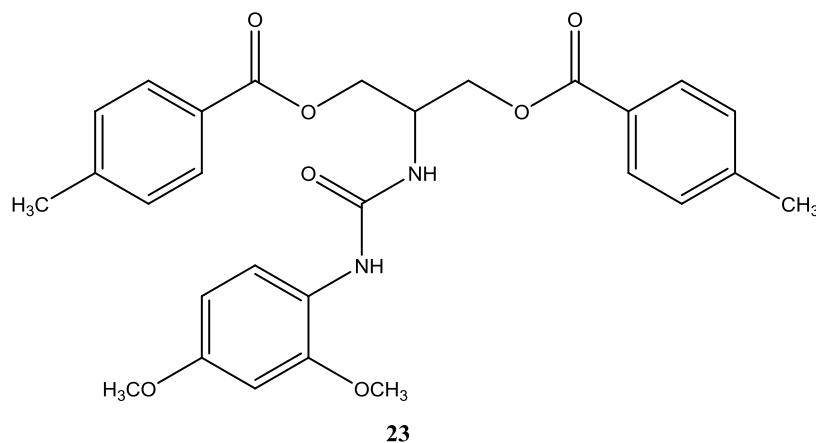
varios días hasta que la cromatografía en capa fina indica que el producto de partida se ha agotado. El medio de reacción se lava sucesivamente con HCl (2 x 20ml), HCO₃Na (2 x 20ml), disolución saturada de sal (20ml). Se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se evapora a sequedad.

4.3.1. 2-Amino-N-[(2-clorofenil-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-1,3-di-O-4-metilbenzoil-propano-1,3-diol (22)



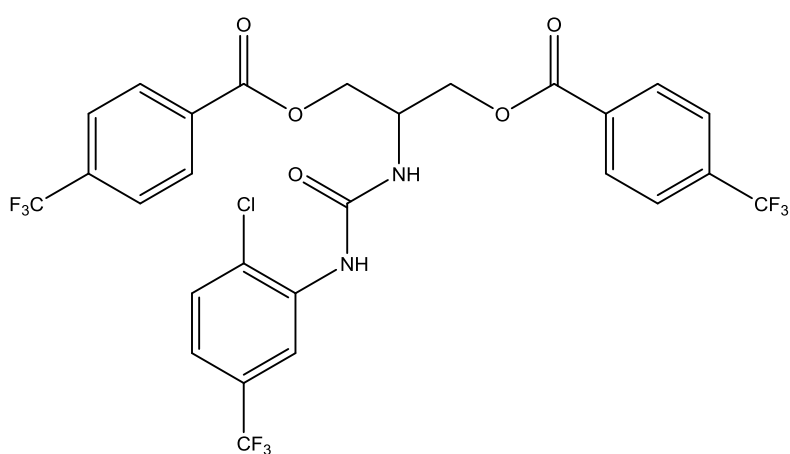
Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (200:1) como eluyente (178 mg, 65% rendimiento). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,56 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,2 Hz, 4H), 7,66 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 8,1 Hz, 5H), 4,59-4,43 (m, 5H), 2,39 (bs, 6H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165,6, 165,5, 143,8, 137,3, 130,2, 129,3, 129,2, 126,7, 124,9, 118,8, 116,7, 63,7, 47,6, 21,1. HRMS (*m/z*): calcd. para C₂₇H₂₄ClN₂F₃O₅Na 571,1224 [M+Na]⁺; encontrado 501,1218.

4.3.2. 2-Amino-N-[(2,4-dimetoxifenil)aminocarbonil]-1,3-di-O-4-metilbenzoil-propano-1,3-diol (23)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (70:1) como eluyente (202 mg, 80% rendimiento). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7,95-7,82 (m, 6H), 7,32 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,07 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H) 6,59-6,57 (m, 1H), 6,47-6,44 (m, 1H), 4,52-4,37 (m, 5H), 3,80 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 2,39 (s, 6H) ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 165,5, 154,9, 154,6, 149,0, 129,4, 129,2, 126,7, 122,3, 119,7, 104,1, 98,7, 64,0, 55,7, 55,2, 47,2, 21,1. HRMS (m/z): calcd. para $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7\text{Na}$ 529,1945 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; encontrado 529,1937.

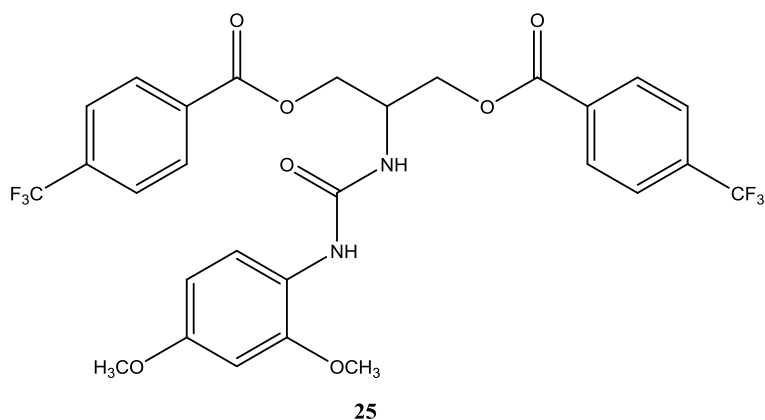
4.3.3. 2-Amino-N-2-clorofenil-5-trifluorometilfenilaminocarbonil-1,3-di-O-4-trifluorometilbenzoil-propano-1,3-diol (24)



24

Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (45:1) como eluyente (202 mg, 80% rendimiento). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8,62 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,07 (d, $J = 8,4$ Hz, 4H), 7,77 (d, $J = 8,3$ Hz, 4H), 7,67 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,57 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,32 (dd, $J = 1,5$ Hz, $J = 8,3$ Hz, 1H) 4,61-4,49 (m, 5H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 165,2, 154,5, 143,7, 137,3, 130,2, 130,1, 128,8, 127,8, 92,5, 63,9, 47,5. HRMS (m/z): calcd. para $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{ClF}_9\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 679,0658 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; encontrado 679,0652.

4.3.4. 2-Amino-N-2,4-dimetoxifenilaminocarbonil-1,3-di-O-4-trifluorometilbenzoil-propano-1,3-diol (25)



Se obtuvo el producto como un sólido mediante cromatografía en columna empleando diclorometano-metanol (30:1) como eluyente (202 mg, 80% rendimiento). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8,14-8,01 (m, 4H), 7,87-7,83 (m, 3H), 7,78-7,73 (m, 3H), 7,07 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,59-6,56 (m, 1H), 6,46-6,41(m, 1H), 4,55-4,44 (m, 5H), 3,79 (s, 3H), 3,73 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 165,4, 154,1, 143,7, 130,1, 128,8, 127,8, 104,1, 98,7, 92,1, 64,1, 55,6, 55,2, 47,2. HRMS (m/z): calcd. para $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_7\text{Na}$ 637,1385 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; encontrado 637,1379.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Diseño de las moléculas objetivos. Análisis retrosintético

Atendiendo a las estructuras químicas vistas anteriormente como compuestos con actividad antiadenoviral, compuestos (18) y (19), ureas derivadas del serinol, se puede proponer un esqueleto general (Figura 14) en el que se aprecien los puntos de variabilidad estructural en los que actuar para el diseño de nuevos análogos, así como incrementar el tamaño de la colección de análogos diferentes, relacionados estructuralmente. La posterior evaluación biológica de estos compuestos permitirá el estudio relación estructura-actividad y conducirá el proceso de optimización de los más activos.

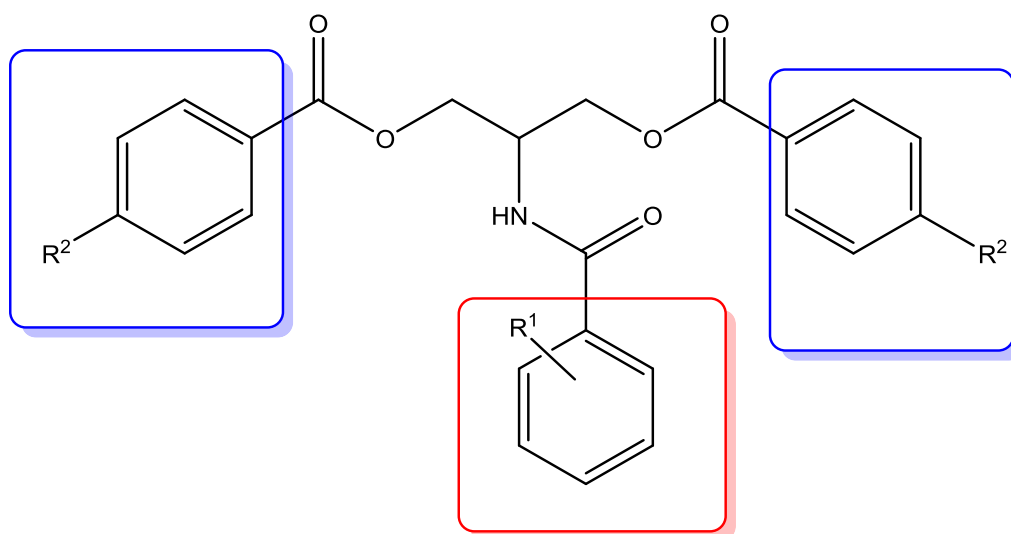


Figura 14. Variabilidad estructural en la estructura del prototipo

En esta estructura general existen dos puntos de variabilidad estructural a la hora de diseñar análogos:

- a) Los sustituyentes en el anillo aromático de los ésteres en posiciones 1 y 2
- c) El sustituyente o sustituyentes y su posición, que porta el anillo aromático de la función urea en posición 3.

El análisis retrosintético planteado para esta estructura general se muestra en la Figura 15.

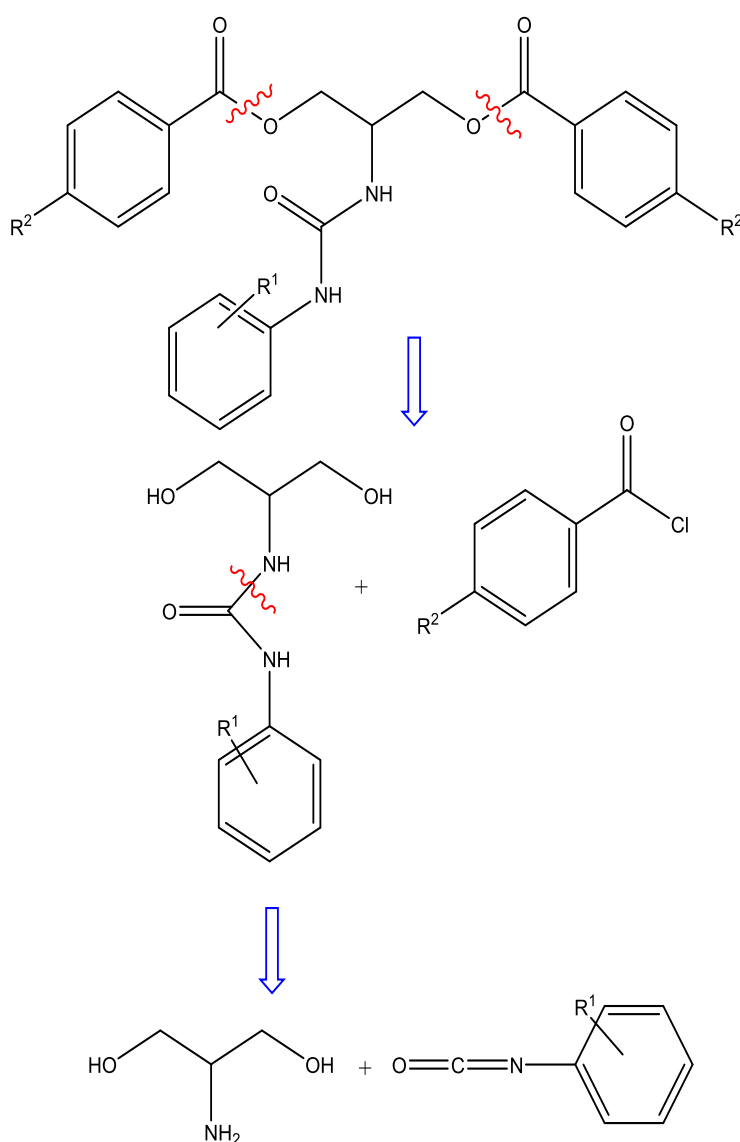


Figura 15. Análisis retrosintético del esqueleto general de los prototipos

5.2. Síntesis de los precursores y de los productos finales

Para la síntesis de los compuestos precursores partimos de un 2-aminopropano-1,3-diol comercial que se hace reaccionar con dos isocianatos diferentes obteniendo dos ureas que difieren en los distintos sustituyentes colocados en el anillo del benceno.

Se escoge como primer reactivo, el 2-cloro-5-trifluorometil-fenilisocianato, por dos razones, la primera por tener los dos mismos sustituyentes que uno de los dos prototipos pero en diferentes posiciones, (uno de esos sustituyentes, el CF₃, se encuentra también en el otro prototipo) y además por ser una función urea presente en potentes compuestos atinadenovirus, derivados de piperazina, previamente sintetizados por el grupo de

investigación (Sánchez-Céspedes et al., 2016). Se busca con ello optimizar la actividad antiviral de ambos prototipos.

El 2,4-dimetoxifenilisocianato se escoge por ser un residuo presente en la quercetina, compuesto natural al que se le ha descrito actividad anti-adenoviral de amplio espectro (Chiang et al., 2003).

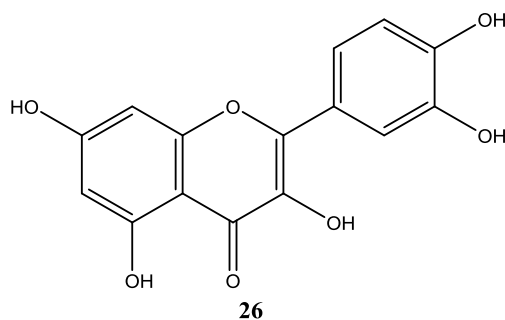
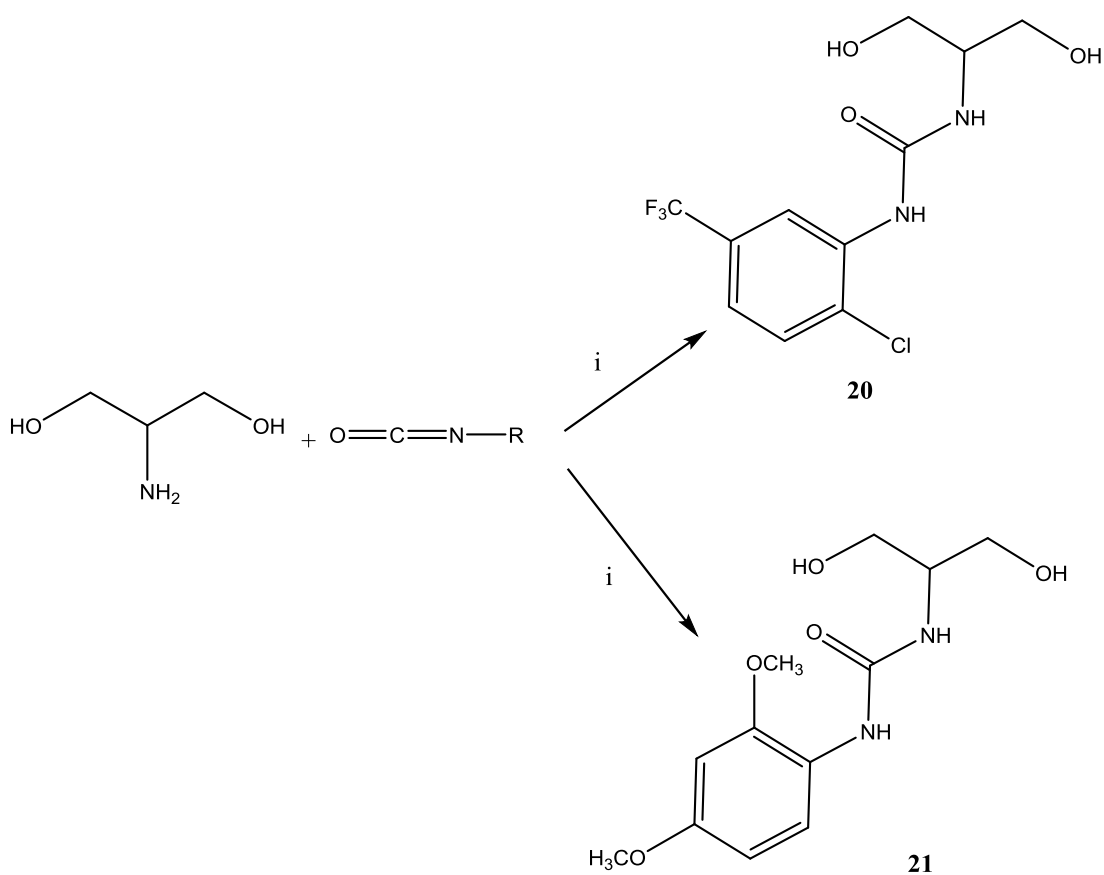


Figura 16. Estructura de la quercetina

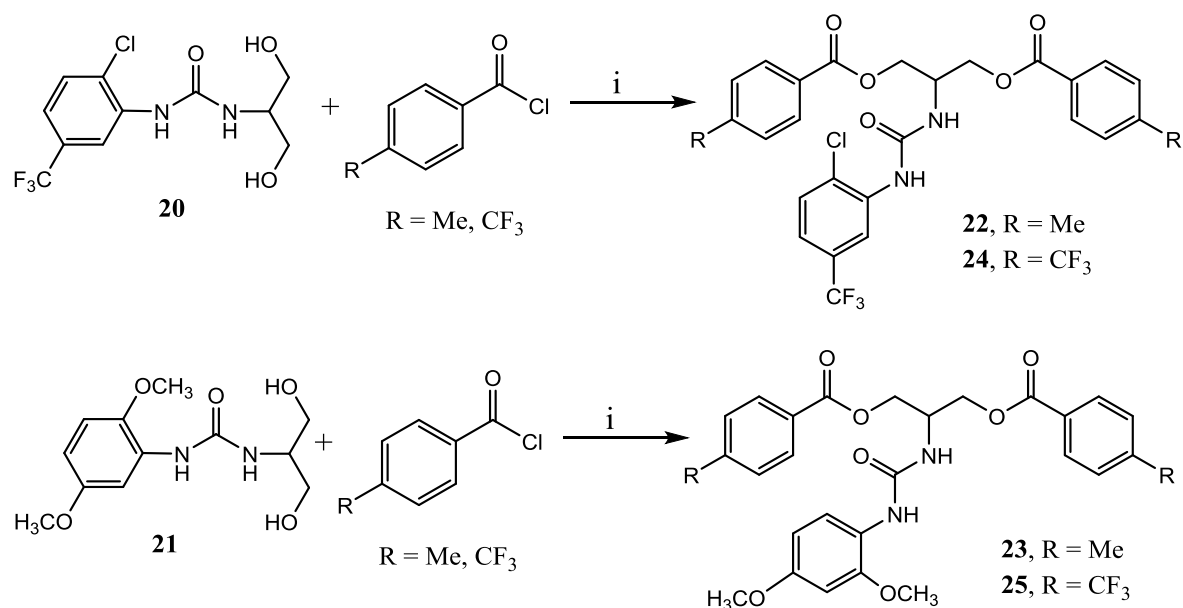
La síntesis de los precursores se recoge en el Esquema 1



i: producto de partida (1 eq), isocianato (1,2 eq), CH₂Cl₂ (15 ml), CH₃OH (1ml), ta

Esquema 1. Síntesis de los precursores **20** y **21**

Para la síntesis de los productos finales se parte de las ureas sintetizadas anteriormente y las hacemos reaccionar con diferentes cloruros de acilo obteniendo 4 productos finales. En relación a los sustituyentes del anillo aromático se escogen dos parecidos en tamaño pero diferentes en propiedades electrónicas y lipofilia, el derivado con metilo en posición para (similar a los prototipos) electrón donador y el derivado con un grupo trifluorometilo, con carácter electrón atrayente y que dota de mayor lipofilia al compuesto. La reacción de las dos ureas con los apropiados cloruro de acilo en exceso y en presencia de 4-dimetilaminopiridina, permite obtener los correspondientes derivados diacilados (**22-25**).



i: Cloruro de acilo (2,2 eq), CH₂Cl₂ (30ml), 4-DAMP (2,5 eq), 25°C

Esquema 3. Síntesis de los productos finales **22-25**

Los productos se obtuvieron con rendimientos de moderados a altos y se caracterizaron completamente por Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de Masas. Los datos espectroscópicos de cada producto se reflejan en la Metodología de esta Memoria.

5.3. Caracterización estructural

Los datos obtenidos de los espectros de Masas, de ¹H-NMR y ¹³C-NMR permiten confirmar la estructura de todos los productos.

En la Tabla 3 se presentan los datos de desplazamiento químico (δ) en ppm de las señales más características de ¹H-NMR de los compuestos (**20-25**).

En los espectros de $^1\text{H-NMR}$ de los compuestos (**20**) y (**21**), además de las señales debidas a los protones de la función urea presente en todos los compuestos en torno a 6-8 ppm, se aprecian los protones de los anillos aromáticos en el rango de 7-8 ppm. Las señales de los protones de los dos hidroxilos aparecen como un singulete ancho a 4 ppm, la señal del metino en posición 2 del esqueleto carbonado se aprecia en torno a 3,5-3,6 ppm y los protones de los dos metilenos aparecen como un multiplete que integra para cuatro protones sobre 3,4-3,5 ppm. El compuesto (**21**) presenta las señales de los dos grupos metoxilo en el anillo aromático, dos singuletes a 3,81 y 3,72. En los espectros de carbono es destacable la señal atribuida al carbonilo de la función urea (154 ppm) y las dos de la cadena en torno a 60 y a 52 ppm.

En los derivados diacilados (**22-25**) no se aprecian las señales de los protones de los grupos hidroxilos, además de aparecer las señales de los 5 protones de la cadena a campo más bajo, en un solo multiplete. En los derivados (**22**) y (**23**), 4-metilbenciloxiderivados, aparece a 2,39 un multiplete que integra para seis protones.

Es destacable la señal en torno a 165 ppm en el espectro de carbono de todos los derivados diacilados atribuida al carbonilo de los grupos ésteres.

Tabla 2. Señales de $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) más características para los compuestos **20-25**

Entry	Comp	NH arom	NH	2 OH	-CH-	-CH ₂ -	2OCH ₃	2 CH ₃
1	20	8,52	8,67	4,72	3,69-3,62	3,55-3,42	-	-
2	21	7,87	7,85	4,64	3,64-3,57	3,51-3,38	3,81, 3,72	-
3	22	8,51	8,56	-	4,59-4,43	-	-	2,39
4	23	7,95-7,82	-	-	4,52-4,37	3,80,3,73	-	2,39
5	24	8,51	8,62	-	4,61-4,49	-	-	-
6	25	8,14-8,01	-	-	4,55-4,44	3,79, 3,73	-	-

La siguiente etapa del proyecto, consistiría en proceder a la evaluación de su actividad como agentes antiadenovirus. Para ello el grupo de investigación trabaja en colaboración con el

grupo del Dr. Sánchez Céspedes, del Instituto de Biomedicina de Sevilla, así como la citotoxicidad de los nuevos compuestos.

6. CONCLUSIONES

Como parte de la línea de investigación que se lleva a cabo en el departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Universidad de Sevilla dirigida a la síntesis de nuevos compuestos con posible actividad antiadenoviral, en este Trabajo de Fin de Grado se ha realizado:

1. El diseño de compuestos derivados de 2-aminopropano-1,3-diol para ver si son potencialmente activos como agentes antivirales, planteadas sus estructuras a partir de los compuestos "tipos" seleccionados previamente por mostrar actividad antiadenoviral.
2. La síntesis de los nuevos compuestos diseñados empleando una metodología sintética sencilla y corta, que transcurre con rendimientos de medios-altos. Se ha sintetizado dos productos precursores y cuatro productos finales.
3. La caracterización estructural de los nuevos compuestos, confirmando que el producto obtenido correspondía con la estructura propuesta. Para el análisis estructural se han realizado sus Espectros de Masas y de Resonancia Magnética Nuclear ¹H-RMN y ¹³C-RMN, para los cuales 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.

7. REFERENCIAS

- Amarelle L, Lecuona E. The Antiviral Effects of Na,K-ATPase Inhibition: A Minireview. *Int J Mol Sci* 2018;19:2154.
- Andersson EK, Strand M, Edlund K, Lindman K, Enquist P-A, Spjut S, et al. Small-molecule screening using a whole-cell viral replication reporter gene assay identifies 2-[[2-(benzoylamino)benzoyl]amino]-benzoic acid as a novel antiadenoviral compound. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3871–7.
- Arnberg N. Adenovirus receptors: Implications for targeting of viral vectors. *Trends Pharmacol Sci* 2012;33:442–8.
- Camargo JF, Morris MI, Abbo LM, Simkins J, Saneeyemehri S, Alencar MC, et al. The use of brincidofovir for the treatment of mixed dsDNA viral infection. *J Clin Virol* 2016;83:1–4.

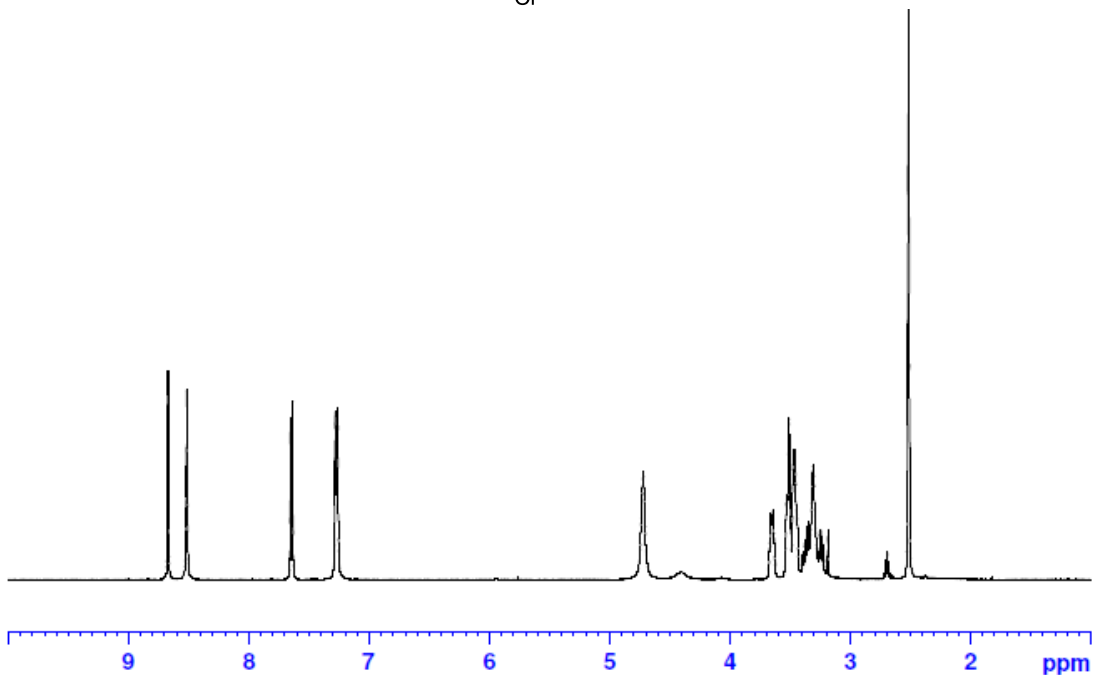
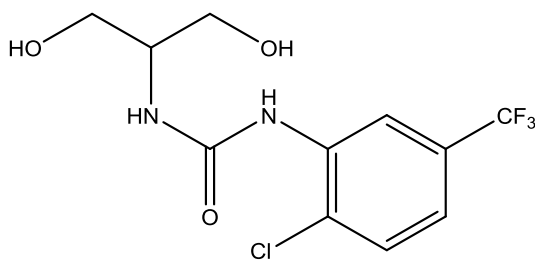
- Chen S, Tian X. Vaccine development for human mastadenovirus. *J Thorac Dis* 2018;10:S2280–94.
- Chiang LC, Chiang W, Liu MC, Lin CC. In vitro antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:194–8.
- Florescu DF, Schaenman JM. Adenovirus in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant* 2019:e13527.
- Frange P, Leruez-Ville M. Maribavir, brincidofovir and letermovir: Efficacy and safety of new antiviral drugs for treating cytomegalovirus infections. *Médecine Mal Infect* 2018;48:495–502.
- Fu Y, Tang Z, Ye Z, Mo S, Tian X, Ni K, et al. Human adenovirus type 7 infection causes a more severe disease than type 3. *BMC Infect Dis* 2019;19:36.
- De Grazia S, Bonura F, Pepe A, Li Muli S, Cappa V, Filizzolo C, et al. Performance evaluation of gastrointestinal viral ELite panel multiplex RT-PCR assay for the diagnosis of rotavirus, adenovirus and astrovirus infection. *J Virol Methods* 2019;268:48–52.
- Graziano V, Luo G, Blainey PC, Pérez-Berná AJ, McGrath WJ, Flint SJ, et al. Regulation of a viral proteinase by a peptide and DNA in one-dimensional space: II. adenovirus proteinase is activated in an unusual one-dimensional biochemical reaction. *J Biol Chem* 2013;288:2068–80.
- Grimley MS, Chemaly RF, Englund JA, Kurtzberg J, Chittick G, Brundage TM, et al. Brincidofovir for Asymptomatic Adenovirus Viremia in Pediatric and Adult Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant Recipients: A Randomized Placebo-Controlled Phase II Trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:512–21. doi:10.1016/j.bbmt.2016.12.621.
- Hierholzer JC. Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev* 1992;5:262–74.
- Ison MG, Hayden RT. Adenovirus. *Diagnostic Microbiol. Immunocompromised Host*, Second Ed., vol. 4, American Society of Microbiology; 2016, p. 217–32.
- Kang D, Zhang H, Zhou Z, Huang B, Naesens L, Zhan P, et al. First discovery of novel 3-hydroxy-quinazoline-2,4(1H,3H)-diones as specific anti-vaccinia and adenovirus agents via ‘privileged scaffold’ refining approach. *Bioorg Med Chem Lett* 2016;26:5182–6.
- Kumaki Y, Woolcott JD, Roth JP, Mclean TZ, Smee DF, Barnard DL, et al. Inhibition of adenovirus serotype 14 infection by octadecyloxyethyl esters of (S)-[(3-hydroxy-2-phosphonomethoxy)propyl]- nucleosides in vitro. *Antiviral Res* 2018;158:122–6.

- Lion T. Adenovirus Infections in Immunocompetent and Immunocompromised Patients. *Clin Microbiol Rev* 2014;27:441–62.
- Lynch J, Fishbein M, Echavarría M. Adenovirus. *Semin Respir Crit Care Med* 2011;32:494–511.
- Lynch J, Kajon A. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med* 2016;37:586–602.
- Malmberg M, Rubio-Guerri C, Hayer J, García-Párraga D, Nieto-Pelegri E, Melero M, et al. Phylogenomic analysis of the complete sequence of a gastroenteritis-associated cetacean adenovirus (bottlenose dolphin adenovirus 1) reveals a high degree of genetic divergence. *Infect Genet Evol* 2017;53:47–55.
- Marrugal-Lorenzo JA, Serna-Gallego A, Berastegui-Cabrera J, Pachón J, Sánchez-Céspedes J. Repositioning salicylanilide anthelmintic drugs to treat adenovirus infections. *Sci Rep* 2019;9:17.
- Marrugal-Lorenzo JA, Serna-Gallego A, González-González L, Buñuales M, Poutou J, Pachón J, et al. Inhibition of adenovirus infection by mifepristone. *Antiviral Res* 2018;159:77–83.
- Martínez-Aguado P, Serna-Gallego A, Marrugal-Lorenzo JA, Gómez-Marín I, Sánchez-Céspedes J. Antiadenovirus drug discovery: potential targets and evaluation methodologies. *Drug Discov Today* 2015a;20:1235–42.
- Matthes-Martin S, Boztug H, Lion T. Diagnosis and treatment of adenovirus infection in immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11:1017–28.
- Nikitenko NA, Gureeva ES, Ozerov AA, Tukhvatulin AI, Izhaeva FM, Prassolov VS, et al. 1-(4-Phenoxybenzyl) 5-Aminouracil Derivatives and Their Analogues - Novel Inhibitors of Human Adenovirus Replication. *Acta Naturae* 2018;10:58–64.
- Öberg CT, Strand M, Andersson EK, Edlund K, Tran NPN, Mei YF, et al. Synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships of 2-[2-(benzoylamino)benzoylamino]benzoic acid analogues as inhibitors of adenovirus replication. *J Med Chem* 2012;55:3170–81.
- Sánchez-Céspedes J, Martínez-Aguado P, Vega-Holm M, Serna-Gallego A, Candela JJ, Marrugal-Lorenzo JA, et al. New 4-Acyl-1-phenylaminocarbonyl-2-phenylpiperazine Derivatives as Potential Inhibitors of Adenovirus Infection. Synthesis, Biological Evaluation, and Structure–activity Relationships. *J Med Chem* 2016a;59:5432–48.
- Sanchez-Céspedes J, Moyer CL, Whitby LR, Boger DL, Nemerow GR. Inhibition of

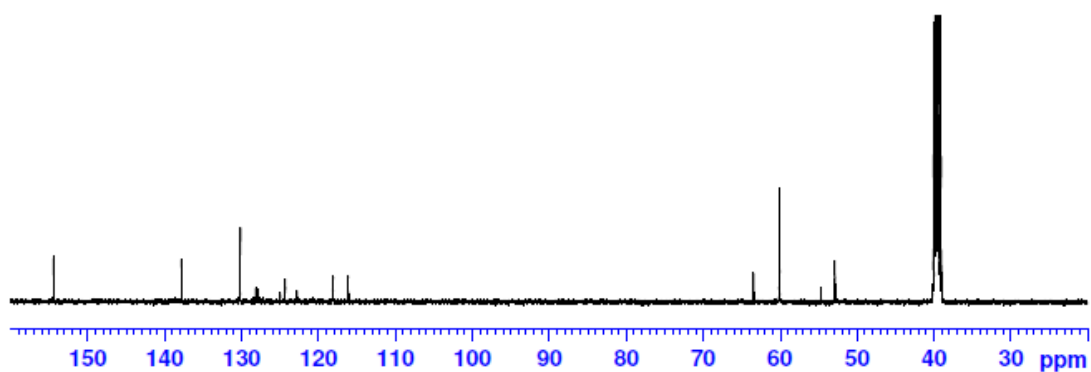
- adenovirus replication by a trisubstituted piperazin-2-one derivative. *Antiviral Res* 2014a;108:65–73.
- Tollefson AE, Spencer JF, Ying B, Buller RML, Wold WSM, Toth K. Cidofovir and brincidofovir reduce the pathology caused by systemic infection with human type 5 adenovirus in immunosuppressed Syrian hamsters, while ribavirin is largely ineffective in this model. *Antiviral Res* 2014;112:38–46.
 - Toth K, Spencer JF, Ying B, Tollefson AE, Wold WSM. HAdV-C6 Is a More Relevant Challenge Virus than HAdV-C5 for Testing Antiviral Drugs with the Immunosuppressed Syrian Hamster Model. *Viruses* 2017a;9.
 - Toth K, Tollefson AE, Spencer JF, Ying B, Wold WSM. Combination therapy with brincidofovir and valganciclovir against species C adenovirus infection in the immunosuppressed Syrian hamster model allows for substantial reduction of dose for both compounds. *Antiviral Res* 2017b;146:121–9. doi:10.1016/j.antiviral.2017.08.002.
 - Waye MMY, Sing CW. Anti-Viral Drugs for Human Adenoviruses. *Pharmaceuticals* 2010;3:3343–54.
 - Wold WS, Tollefson AE, Ying B, Spencer JF, Toth K. Drug development against human adenoviruses and its advancement by Syrian hamster models. *FEMS Microbiol Rev* 2019a.
 - Wold WS, Toth K. New drug on the horizon for treating adenovirus. *Expert Opin Pharmacother* 2015;16:2095–9.
 - Ying B, Tollefson AE, Spencer JF, Balakrishnan L, Dewhurst S, Capella C, et al. Ganciclovir Inhibits Human Adenovirus Replication and Pathogenicity in Permissive Immunosuppressed Syrian Hamsters. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:7171–81.
 - Yoon BW, Song YG, Lee SH. Severe community-acquired adenovirus pneumonia treated with oral ribavirin: a case report. *BMC Res Notes* 2017;10:47.
 - Zhurilo NI, Chudinov M V., Matveev A V., Smirnova OS, Konstantinova ID, Miroshnikov AI, et al. Isosteric ribavirin analogues: Synthesis and antiviral activities. *Bioorg Med Chem Lett* 2018;28:11–4.

8. ANEXOS

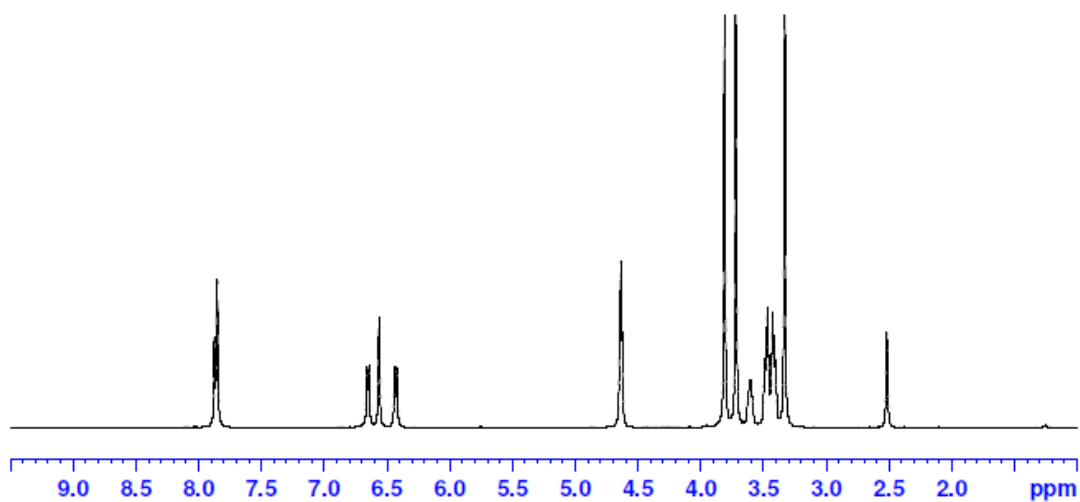
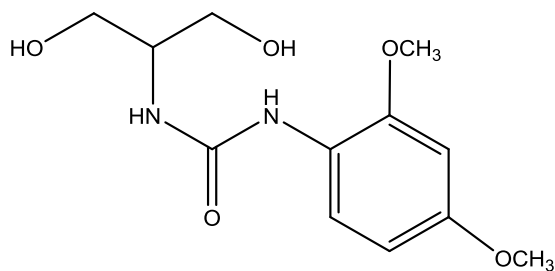
- Espectro de ^1H y ^{13}C NMR de 2-Amino-*N*-[(2-cloro-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**20**) 36
- Espectro de ^1H y ^{13}C NMR de 2-Amino-*N*-[(2,4-dimetoxi)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**21**) 37
- Espectro de ^1H y ^{13}C NMR de 2-Amino-*N*-[(2-clorofenil-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-1,3-di-*O*-4-metilbenzoil- propano-1,3-diol (**22**) 38
- Espectro de ^1H y ^{13}C NMR de 2-Amino-*N*-[(2,4-dimetoxifenil)aminocarbonil]-1,3-di-*O*-4-metilbenzoil-propano-1,3-diol (**23**) 39



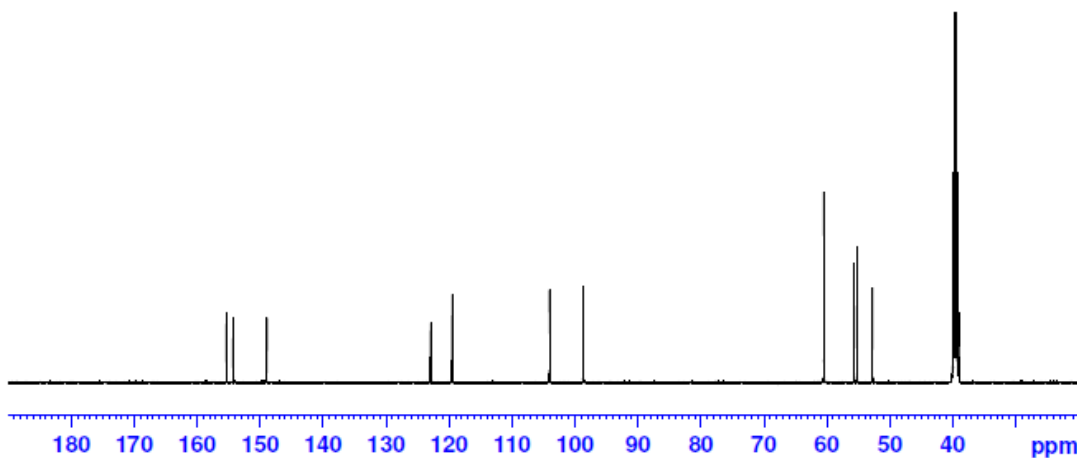
Espectro de ^1H -NMR de 2-Amino-*N*-[(2-cloro-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**20**)



Espectro de ^{13}C -NMR de 2-Amino-*N*-[(2-cloro-5-trifluorometil)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**20**)

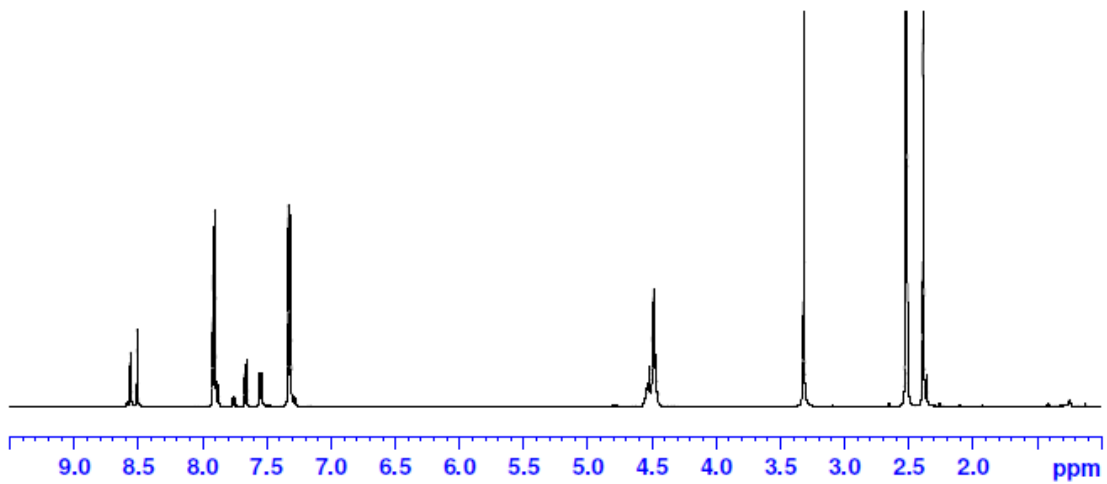
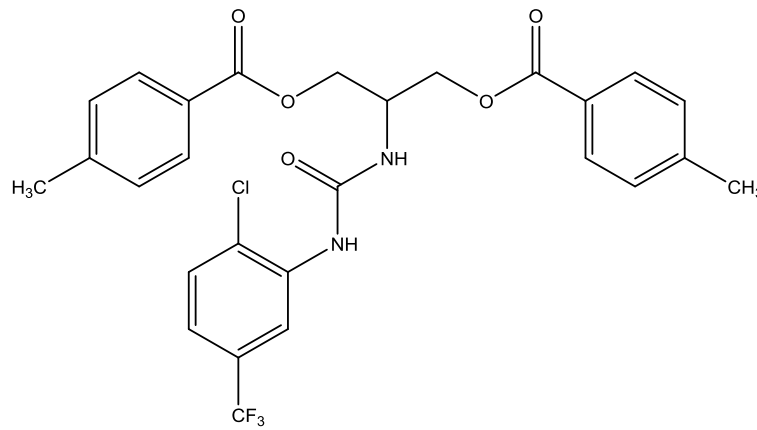


Espectro de ^1H -NMR de 2-Amino-*N*-[(2,4-dimetoxi)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**21**)

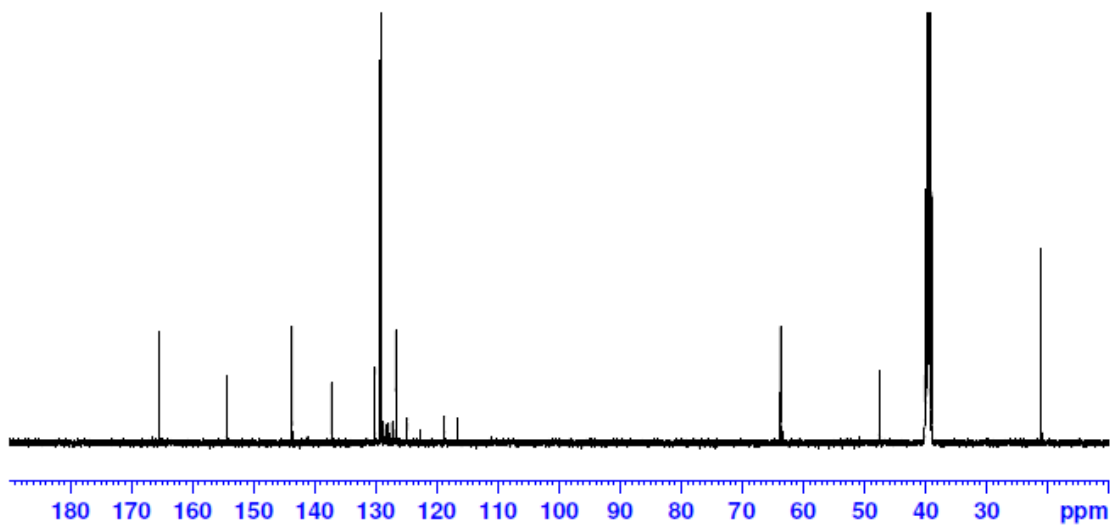


Espectro de ^{13}C -NMR de 2-Amino-*N*-[(2,4-dimetoxi)fenilaminocarbonil]-propano-1,3-diol (**21**)

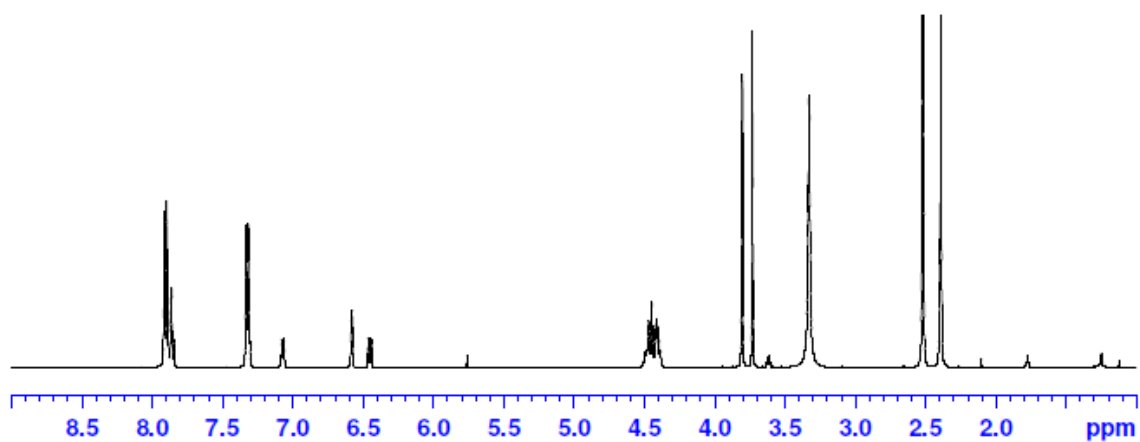
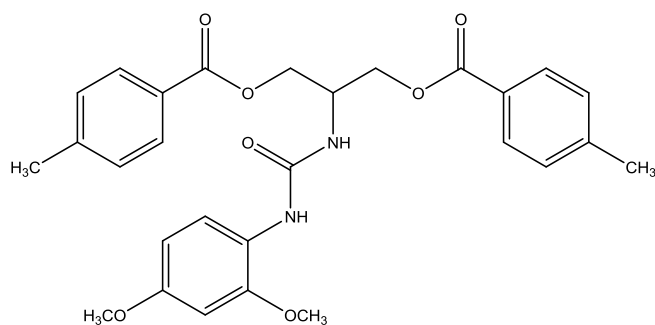
Diseño, síntesis y caracterización estructural de compuestos derivados de 2-aminopropano-1,3-diol potencialmente activos como antivirales



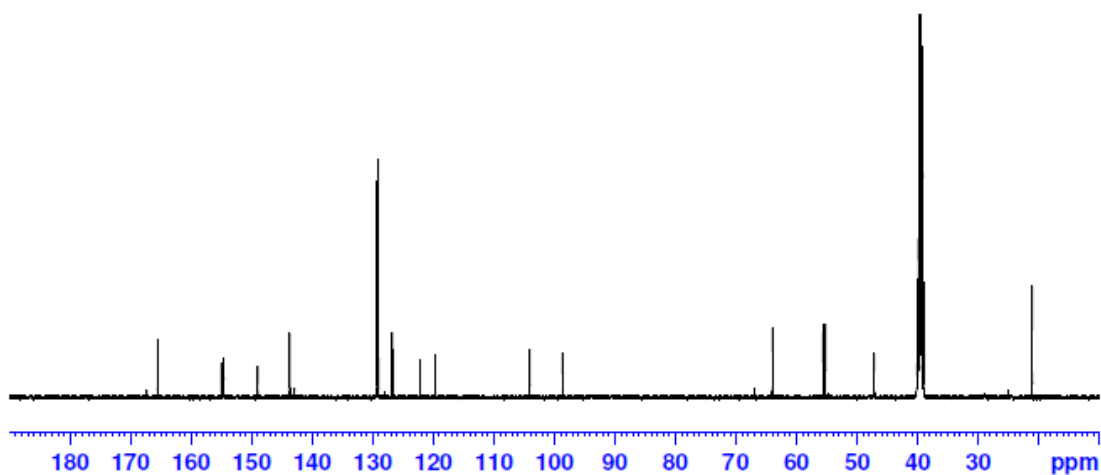
Espectro de $^1\text{H-NMR}$ 2-Amino-*N*-[(2-clorofenil-5-trifluorometil)fenilaminocarbonyl]-1,3-di-*O*-4-metilbenzoil- propano-1,3-diol (22)



Espectro de $^{13}\text{C-NMR}$ de 2-Amino-*N*-[(2-clorofenil-5-trifluorometil)fenilaminocarbonyl]-1,3-di-*O*-4-metilbenzoil- propano-1,3-diol (22)



Espectro de $^1\text{H-NMR}$ 2-Amino-N-[(2,4-dimetoxifenil)aminocarbonyl]-1,3-di-O-4-metilbenzoil-propano-1,3-diol (**23**)



Espectro de $^{13}\text{C-NMR}$ de 2-Amino-N-[(2,4-dimetoxifenil)aminocarbonyl]-1,3-di-O-4-metilbenzoil-propano-1,3-diol (**23**)