



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**SULFAMIDAS: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS Y
QUÍMICO - TERAPÉUTICOS**

Autores: Alicia Ramón Victoria, Olmo Martín Cámara

D.N.I.: 47554549-W, 02307836 – Q

Tutor: Giorgio Giorgi

Convocatoria: Junio - 2016

ÍNDICE:

RESUMEN.	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.	3
OBJETIVOS.	7
METODOLOGÍA.	7
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	12
CONCLUSIONES.	18
BIBLIOGRAFÍA.	19

RESUMEN.

Las sulfamidas son antibióticos bacteriostáticos muy selectivos y seguros, ya que actúan mediante el bloqueo de la dihidropteroato sintasa, enzima exclusivamente bacteriana. Esta inhibición impide la síntesis de ácido fólico, cofactor imprescindible para la obtención de bases nitrogenadas, y por tanto de ADN bacteriano, bloqueando la proliferación del microorganismo.

Sin embargo, en las últimas décadas, debido al desarrollo de múltiples tipos de resistencia por parte de los microorganismos, la aparición de algunos efectos adversos importantes y al desarrollo de nuevos fármacos más seguros y eficaces su uso se ha reducido vertiginosamente.

Esto ha restringido la utilidad de estos fármacos a casos muy concretos como la profilaxis de la transmisión vertical en malaria, toxoplasmosis o al tratamiento de algunas infecciones cutáneas.

A pesar de este hecho, en el Grado en Farmacia se sigue estudiando la síntesis de estos compuestos, ya que es considerada de importante interés académico, por ello tratamos de desarrollar una ruta sintética optimizada y adecuada a las características de un laboratorio de prácticas.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

Las sulfamidas, (de estructura general *p*-aminobencenosulfonamida) son antibióticos sintéticos bacteriostáticos descubiertos en la década de 1930 que actúan mediante la inhibición reversible de la enzima dihidropteroato sintasa, enzima exclusivamente bacteriana. Esto hace que la actividad sea altamente selectiva, ya que no hay otras dianas endógenas humanas con las que pueda interactuar, al menos a este nivel.^{1, 2, 3}

La acción de este grupo de moléculas reside en su semejanza con el ácido *p*-amino benzoico (PABA), que les permite incorporarse como antimetabolitos en la ruta biosintética del ácido fólico, dando lugar a metabolitos defectuosos, que no pueden transformarse en ácido dihidrofólico de forma que se interrumpe la síntesis de cofactores necesarios en la síntesis de bases púricas y pirimidínicas, lo que bloquea la replicación del ADN bacteriano.⁴

Debido a que algunas sulfamidas son capaces de alcanzar niveles elevados en sangre y líquido cefalorraquídeo, durante muchos años este tipo de fármacos estuvo indicado, junto con trimetoprim, en el tratamiento de las meningitis causadas por microorganismos sensibles^{5,6}. Sin embargo, algunos factores entre los que se encuentran el descubrimiento de antibacterianos más seguros y eficaces, la aparición de resistencias en diversas especies o las reacciones adversas que se les atribuyen, (por ejemplo cristaluria, reacciones de hipersensibilidad, anemia aplásica, neutropenia, agranulocitosis, cefalea, fatiga y otros síntomas gastrointestinales), han restringido la utilidad original de este tipo de fármacos a nuevas aplicaciones en muy distintos ámbitos donde, además, no suelen aparecer como primera elección terapéutica.

La aparición de resistencias es un problema altamente extendido debido a la gran capacidad de transmisión entre cepas gracias a la presencia de fragmentos móviles de DNA. Además, no se trata de un solo mecanismo de resistencia, sino que existen numerosas variaciones, encontrándose entre las posibilidades el aumento de producción de PABA, la disminución de la afinidad de la dihidropteroato sintasa por el quimioterápico, un aumento de la producción de este mismo enzima, o el llamado bypass metabólico, por el que las bacterias pierden la capacidad de sintetizar ácido fólico y pasan a incorporarlo del medio⁵. Entre las aplicaciones menos clásicas podemos encontrar el tratamiento y profilaxis de malaria, toxoplasmosis o infecciones cutáneas.

MALARIA.

Desde hace tiempo se conoce la utilidad de la terapia combinada de sulfadoxina con pirimetamina⁷ en el tratamiento y profilaxis de malaria, ya que tanto *Plasmodium vivax* como *P. falciparum*, los agentes etiológicos, son sensibles a la inhibición combinada de la ruta sintética del ácido fólico. De esta forma el tratamiento conjunto lleva a la eliminación completa de estos parásitos en dosis única. Sin embargo, la aparición de algunas cepas resistentes de *P. falciparum* en las zonas endémicas ha desencadenado que otras alternativas terapéuticas primen sobre esta, dejándola como una opción en los casos más persistentes de malaria o para algunos casos como profiláctico.

Y es que donde sí que sigue siendo una opción terapéutica muy válida es precisamente como profiláctico de la transmisión vertical en embarazo, beneficiándose del efecto terapéutico tanto la madre como el feto. En el primer caso, se ha demostrado que el tratamiento quimioprofiláctico frente a placebo reduce significativamente la parasitemia

así como algunos de los efectos negativos de la misma, entre los que podemos encontrar la anemia media y severa⁸. A nivel del no nato, el mismo tipo de ensayo demostró un aumento del peso neonatal y una reducción significativa de los niveles de parasitemia intraplacentaria. Además, estos estudios no mostraron que se produjeran efectos adversos de forma específica frente a los casos tratados con placebo.

TOXOPLASMOSIS.

La utilidad de los derivados de sulfamidas en el tratamiento de la toxoplasmosis radica en la utilización de la combinación sulfadiazina-pirimetamina (SP) en los casos de infección oportunista en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA); y de forma más extendida en el tratamiento de mujeres embarazadas infectadas por *Toxoplasma gondii*, siendo tanto la madre como el feto alcanzados por el efecto terapéutico. Sin embargo, el uso de este fármaco en este tipo de pacientes debe ser muy bien valorado con respecto a las otras alternativas terapéuticas, espiramicina principalmente, ya que aumentan la seguridad en el no nato. La diferencia más importante radica en la capacidad de la SP de atravesar la barrera placentaria y llegar al feto, sobre quien puede tener graves consecuencias teratogénicas como anemia aplásica o neutropenia por supresión de la médula ósea, sobre todo si la administración se produce en el primer trimestre de gestación.

El motivo de que la combinación SP siga utilizándose frente a la espiramicina, que no presenta estos efectos adversos, es que en caso de que el feto también se encuentre infectado por *T. gondii* solo la SP, ya sea en combinación con la espiramicina o por sí sola, puede reducir la parasitemia intraplacentaria.

En cuanto a su uso en el tratamiento de pacientes con SIDA⁹, la terapia con SP ha demostrado ser efectiva en el 75-89% de los casos, siendo así la terapia de elección por encima de otras combinaciones como pirimetamina-clindamicina o incluso trimetoprim-sulfametoxazol^{10,11}.

DERMATOLÓGICAS.

Las sulfamidas tienen escasas aplicaciones dermatológicas, de manera que nunca son fármacos de elección y su uso se restringe a la segunda o tercera elección terapéutica en caso de alteraciones del tipo de granuloma inguinal, cancroide, linfogranuloma venéreo, micetomas, acné, infecciones por *Nocardia* o profilaxis de infecciones por *Pseudomonas*

o *Staphylococcus* en caso de quemaduras o algunas heridas superficiales. En estos casos el tratamiento sería con trimetoprim-sulfametoxazol o con sulfadiazina argéntica (tópica)¹².

ANTECEDENTES EXPERIMENTALES.

El estudio y la síntesis de las sulfamidas forman parte de la programación tanto teórica como práctica de la asignatura Química Farmacéutica I. Por ello, La síntesis de la sulfanilamida (estructura más sencilla de este grupo) se lleva a cabo en las prácticas de la asignatura, permitiendo a los alumnos el aprendizaje de nuevos métodos sintéticos y de nuevas técnicas experimentales.

Sin embargo, para la obtención de uno de los intermediarios es necesario un reflujo de apenas 15 minutos con amoníaco concentrado. Esto desprende olores muy desagradables que se multiplican al realizarse de forma simultánea por todos los alumnos de prácticas, por lo que puede resultar muy molesto.

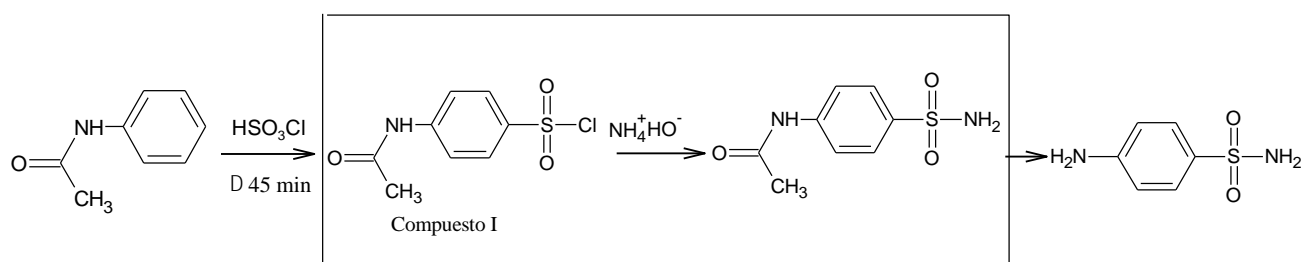


Figura 1: Reacción descrita en el protocolo de prácticas de la asignatura, destacada la reacción que se pretende sustituir.

Anteriormente se ha probado una ruta sintética alternativa que incluye otros procesos para la obtención del mismo producto final (sulfatiazol) dentro de un marco lectivo, económico y temporal que se adecuan al periodo académico objetivo.

Dicha ruta, trata de sustituir la reacción señalada en la Figura 1 por la reacción que se describe más adelante en REACCIÓN III: Síntesis del acetamido-p-benzosulfatiazol propuesta en bibliografía^{13,14}.

OBJETIVOS.

A raíz de los antecedentes mencionados en apartados anteriores, se han propuesto los siguientes objetivos:

- Realizar una revisión bibliográfica de los usos de las sulfamidas, determinando las causas del descenso de su uso y las aplicaciones actuales de las mismas.
- En vista de que el procedimiento propuesto para sustituir la reacción que precisa amoniaco se pudo realizar en el laboratorio de prácticas con los materiales que se encuentran en el mismo¹⁵, se propone un re-escalado de dicho procedimiento para lograr la obtención de mayores cantidades de producto, con el fin de que sean manejables por los alumnos.
- Comprobar que las reacciones III y IV tienen lugar al duplicar el peso de los reactivos, utilizando el material y los recursos de los que disponen los alumnos de prácticas en el laboratorio y dentro del tiempo establecido por la facultad para la realización de las prácticas (3 horas por cada sesión) teniendo en cuenta el tiempo de montaje, la preparación de los productos y el tiempo que lleva cada reacción en sí misma.

METODOLOGÍA.

METODOLOGÍA DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Para la revisión bibliográfica se utilizaron bases de datos on-line tanto nacionales como internacionales, fueron:

- PubMed
- Monografías por principio activo en Vademécum 2016
- Elsevier Journals
- SciFinder
- UpToDate

En cuanto a la revisión bibliográfica se establecieron algunos criterios de inclusión para los artículos que pudieran ser encontrados en las bases de datos mencionadas en el apartado anterior, con el fin de obtener unas referencias especializadas y fiables.

- Artículos relacionados con el tema a tratar, incluidos en algunos casos como bibliografía de otros artículos que se consideraron relevantes.

- Artículos en revistas de acceso libre.
- Posteriores al año 2000, excepto las fuentes empleadas para el estudio de su historia.
- Publicadas en inglés o español.

METODOLOGÍA DE LA PARTE EXPERIMENTAL.

Los materiales utilizados para la realización del procedimiento experimental fueron:

INSTRUMENTAL	REACTIVOS
- Material de vidrio (vasos de precipitados, matraces de fondo redondo, varillas) <i>Scharlau</i> .	- Ácido clorosulfónico <i>ALDRICH</i> .
- Probetas y pipetas <i>Álamo</i> .	- Acetanilida <i>PANREAC</i> .
- Matraces kitasato <i>Schott AG</i> .	- Tiourea <i>PANREAC</i> .
- Bomba de vacío <i>KNF LABPORT</i>	- 1,1-dimetoxi-2-cloroetano <i>ALDRICH</i> .
- Tubo refrigerante	- Carbonato potásico <i>PANREAC</i> .
- Balanza <i>Sartorius CP323S</i>	- Ácido fosfórico 85% <i>PANREAC</i> .
	- Acetonitrilo anhidro <i>ACROS</i>
	- Ácido clorhídrico <i>QUIMIPUR</i>

La parte experimental está orientada a la obtención del sulfatiazol, para lo cual se realiza por duplicado (las reacciones son ensayadas de forma simultánea por dos analistas) una síntesis convergente en la que se sintetiza por un lado acetamino - *p*-benzenosulfonilo (*Compuesto I*) y por otro 2-tiazolamina (*Compuesto II*). Ambos productos, completamente secos y en condiciones anhidras, se pondrán a reaccionar para obtener acetamido - *p* - benzosulfatiazol (*Compuesto III*) que se someterá a una hidrólisis para su desprotección y posterior obtención del sulfatiazol (*Compuesto IV*).

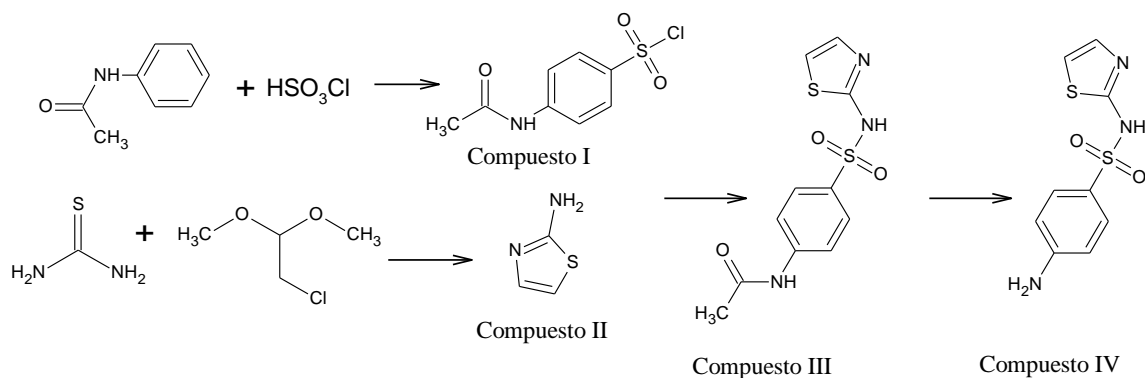


Figura 2: Esquema general de todo el proceso sintético: síntesis convergente para la obtención del sulfatiazol.

REACCIÓN I: Síntesis del cloruro de acetamino-*p*-bencenosulfonilo (Compuesto I)¹⁶.

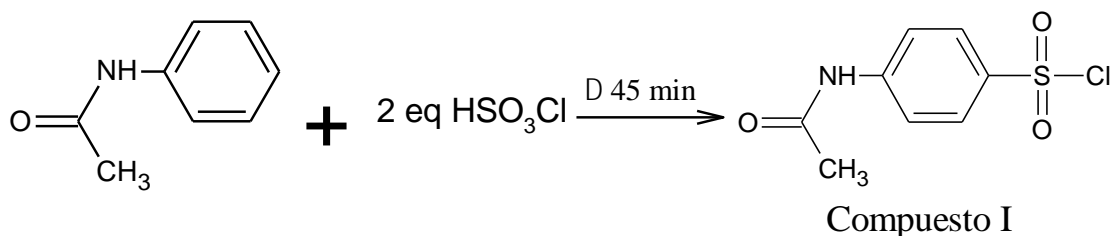


Figura 3: Esquema de la síntesis del acetamido - *p* - bencenosulfonilo (Compuesto I).

En un matraz de fondo redondo de 100 mL de capacidad, se añaden 10 mL de ácido clorosulfónico. Sobre el contenido del matraz se añade en pequeñas porciones 3,5 g (0,025 mol) de acetanilida anhidra y se remueve bien la mezcla con una varilla de vidrio.

Cuando se ha disuelto la acetanilida casi en su totalidad, se acopla el refrigerante al matraz, pero sin conectar el agua, y se calienta en baño de agua durante 45 minutos, contados a partir del comienzo del reflujo. A continuación, y una vez frío, se vierte la mezcla de reacción lentamente y con agitación continua sobre 100 g de hielo contenidos en un vaso de precipitados de 250 mL de capacidad.

Se produce la formación de una masa gomosa y blanca que se somete a filtración a vacío a través de un filtro Büchner, se lava con una pequeña cantidad de agua y se seca lo máximo posible por succión (golpeando el producto con la varilla para optimizar el secado). El sólido pulverulento resultante (de color blanco rosado suave) se extiende en un papel de filtro lo máximo posible para proceder a su pesada al día siguiente.

Nota: El ácido clorosulfónico es un compuesto fumante (produce gases al contacto con el oxígeno) y la adición de la acetanilida sobre este ácido provoca el desprendimiento de

gran cantidad de gases que resultan ser muy irritantes, por lo que esta adición no se deberá realizar nunca fuera de la campana.

REACCIÓN II: Síntesis de la 2-tiazolamina (Compuesto II)¹⁶.

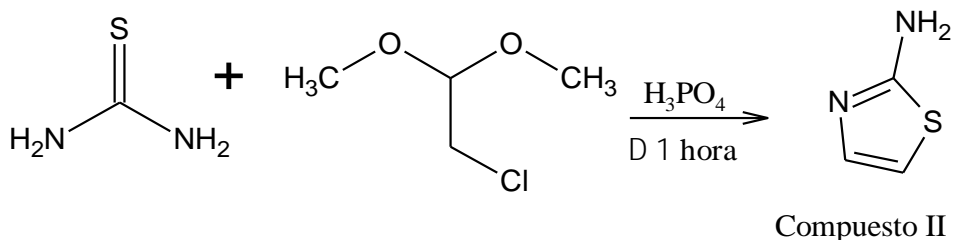


Figura 4: Esquema detallado de la síntesis de la 2-tiazolamina (Compuesto II).

En un matraz de fondo redondo de 100 mL de capacidad se dispone 1 g de *tiourea* y se disuelve en 10 mL de agua. Se añaden a continuación 1,7 g de *1,1-dimetoxi-2-cloroetano* (0.0136 mol) y 0,1 mL de *ácido fosfórico al 85%*. El matraz se sujeta con una pinza al soporte y se coloca el refrigerante. La mezcla de reacción se calienta directamente a la llama durante 1 hora. Transcurrido ese tiempo, el refrigerante se coloca en posición descendente y se conecta al matraz mediante la pieza de destilación. Se calienta el matraz para destilar 5 mL de agua, que se desprecian.

El matraz de reacción se enfría en un baño de hielo y, agitando, se neutraliza hasta alcanzar valores de pH en torno a 8-9 (utilizar papel indicador) con NaOH 12 M (se necesitan aproximadamente 2 mL). El precipitado blanquecino que se forma se filtra a vacío y se lava con la mínima cantidad de bicarbonato sódico. El sólido obtenido se deja secar al aire toda la noche y a continuación se pesa para calcular el rendimiento.

REACCIÓN III: Síntesis del acetamido-*p*-benzosulfatiazol (Compuesto III).

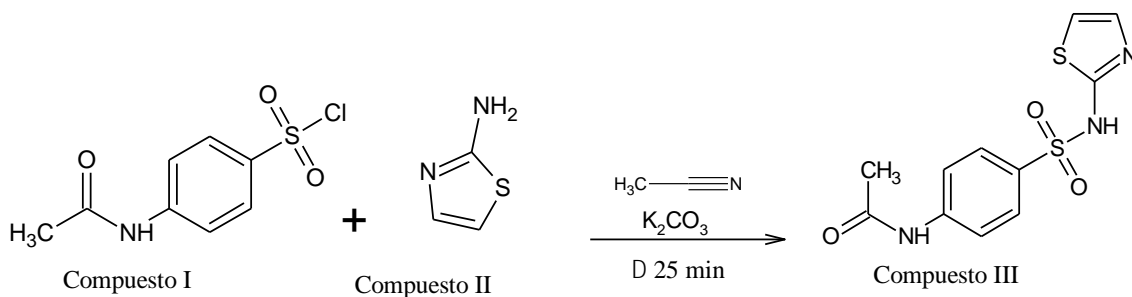


Figura 5: esquema detallado de la síntesis del acetamido - *p* - benzosulfatiazol.

En un matraz de fondo redondo de 100 mL bien seco se añaden 0,6 g (0,057 mol) *Compuesto II*, 3 mL de *acetonitrilo anhidro* y un agitador magnético. A continuación, y

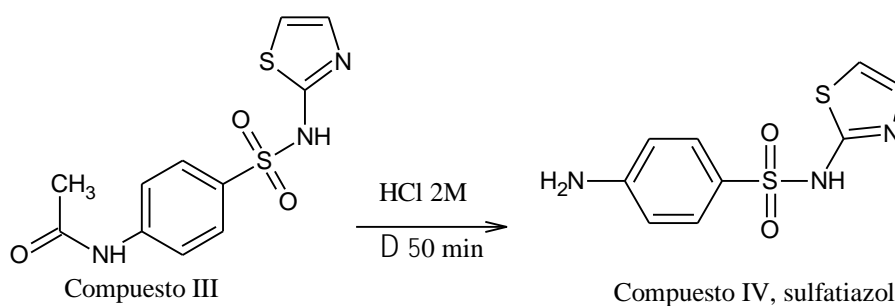
ya bajo agitación magnética, se añaden 1,6 g de *carbonato potásico* seguidos de 1,5 g de cloruro de *Compuesto I* en pequeñas porciones con el fin de mantener siempre la temperatura de la mezcla de reacción por debajo de los 40 °C. Una vez completada la adición, la mezcla se calienta en condiciones de reflujo en un baño de agua durante 25 minutos.

La solución resultante se adiciona sobre 8-10 mL de hielo dispuestos en un vaso de precipitados de 100 mL de capacidad y se mantiene la agitación hasta la completa solidificación del producto. Puede ser necesaria la acidificación del medio hasta pH 5 utilizando HCl 2 M para facilitar así la precipitación del sólido. Una vez se ha producido este fenómeno, el producto, de aspecto marrón muy oscuro casi negro, es recogido y filtrado a vacío.

Nota: Esta reacción debe realizarse en condiciones totalmente anhidras, por lo que se debe utilizar material perfectamente seco (estufa) y en todo momento el matraz que contenga la mezcla de reacción debe estar conectado con un tubo de cloruro cálcico.

REACCIÓN IV: Desprotección del acetamido-*p*-benzosulfatiazol para la obtención del sulfatiazol (Compuesto IV).

El objetivo de esta desprotección dejar libre el grupo amino mediante una reacción de hidrólisis. Se experimentaron varias condiciones de hidrólisis, todas ellas basadas en el procedimiento descrito y ensayado. (Jeff Boyle et al).^{13,14}



*Figura 6: Reacción de desprotección del acetamido - *p* - benzosulfatiazol para la obtención del producto final, sulfatiazol (Compuesto IV).*

El *Compuesto III* se añade junto con 10 mL de HCl 2 M a un matraz de fondo redondo de 100 mL de capacidad y se calienta a reflujo durante 30 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se deja atemperar primero unos minutos para después

enfriarla en un baño de agua-hielo durante otros 5-10 minutos. A continuación, se neutraliza el medio mediante la adición lenta y en pequeñas porciones de bicarbonato sódico (utilizar tiras de pH). Finalmente, al alcanzar pH 7-8 se forma un sólido marrón oscuro que es filtrado a vacío y que puede lavarse con una mínima cantidad de bicarbonato sódico.

Nota: la cantidad de bicarbonato sódico necesaria se encuentra en torno a los 20 mL en caso de utilizar una disolución saturada, o los 2 gramos en caso de utilizarse en forma sólida.

Una vez seco el *Compuesto IV*, se procede a su caracterización mediante una prueba de resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) y una resonancia magnética nuclear de Carbono (^{13}C – RMN), utilizándose como disolvente de la muestra *dimetilsulfóxido* (DMSO).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA.

Tras el estudio bibliográfico realizado siguiendo la metodología expuesta en el apartado anterior (*METODOLOGÍA DE LA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA*), fueron seleccionados doce artículos.

A pesar de las restricciones marcadas en la metodología utilizada, hubo que descartar multitud de escritos por que sus contenidos resultaban reiterativos entre sí.

RESULTADOS DE LA PARTE EXPERIMENTAL.

Siguiendo el protocolo detallado en el apartado anterior (*METODOLOGÍA DE LA PARTE EXPERIMENTAL*) se obtuvieron resultados que finalmente cumplieron con lo esperado.

Reacción I: Obtención del acetamido - *p*- bencenosulfonilo (I).

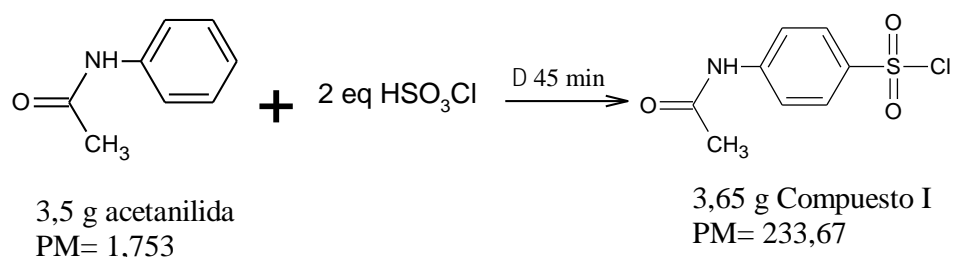


Figura 7: Esquema de la reacción I con los resultados obtenidos.

REACCIÓN	CANTIDAD OBTENIDA (gramos)	RENDIMIENTO (%)	TIEMPO TOTAL (min)
IA	3,6	59,2	115
IB	3,7	60,9	120
MEDIA	3,65	60,1	117,5

Tabla 1: Resumen de los resultados obtenidos en cada ensayo de la reacción I, realizados por el analista A y B.

En este primer paso observamos un rendimiento en torno al 60%, siendo la cantidad obtenida más que suficiente para poder ser manipulada por los estudiantes con comodidad (3,65 g de media). Con respecto al tiempo de reacción, existe una diferencia notable entre el tiempo en el que la mezcla de reacción está a reflujo y el tiempo total final, esto se debe al tiempo que habitualmente se tarda en preparar los reactivos y el montaje.

Cabe destacar una incidencia que tiene lugar a la hora de llevar a cabo la reacción, y es que nos vimos obligados a realizar la adición del *ácido clorosulfónico* y la adición del crudo de reacción al hielo en la campana de extracción. Al estar estas habitualmente ocupadas por una gran cantidad de alumnos este paso podría ser muy limitante en cuanto al tiempo que lleva la realización de la práctica, y peligroso en caso de que algún alumno la hiciera fuera del amparo de la campana.

Reacción II: Obtención de 2- tiazolamina (II).

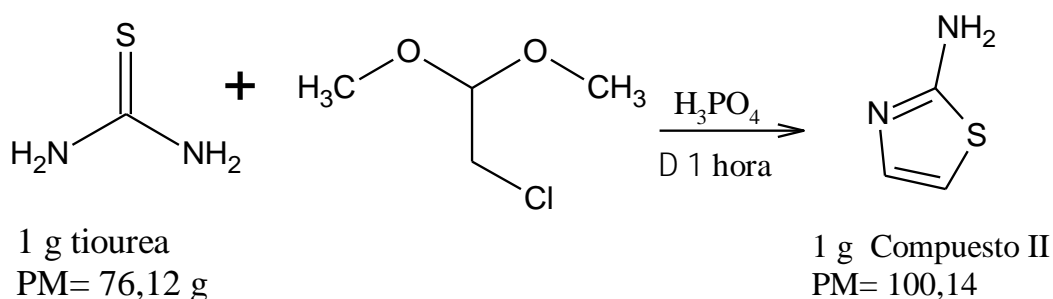


Figura 8: Esquema de la reacción II, con los resultados obtenidos.

REACCIÓN	CANTIDAD OBTENIDA (gramos)	RENDIMIENTO (%)	TIEMPO TOTAL (min)
IIA	0,9	69,7	130
IIB	1,1	77,7	120
MEDIA	1,00	73,70	125

Tabla 2: Resumen de los resultados obtenidos en los distintos ensayos de la reacción II realizados por los analistas A y B.

Como se puede observar en este caso el rendimiento es superior al 70%, y las cantidades obtenidas del *Compuesto II* rondan 1 gramo, por lo que este proceso también resultaría adecuado para los alumnos. De nuevo, el tiempo total difiere mucho del tiempo de

reacción *per sé* siendo las causas las mismas que en el caso anterior: montaje y preparación de los reactivos.

Cabe destacar de este proceso la dificultad que entraña el montaje de la destilación, ya que requiere cambiar un montaje relativamente complejo por otro sin perder producto en el proceso y con el material de trabajo caliente. Además, el montaje de la destilación resulta algo tosco, ya que no hay material adecuado para sostener el propio montaje, y el recipiente donde se debe recoger el destilado tiende a estar en equilibrio precario, por lo que requiere una cierta planificación poder continuar con la reacción.

Reacción III: Obtención del acetamino-*p*-bencenosulfatiazol (III).

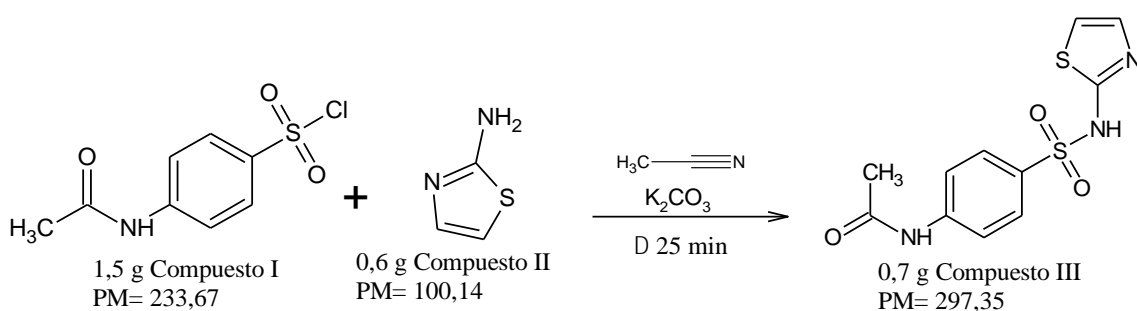


Figura 9: Esquema de la reacción III con los resultados obtenidos.

REACCIÓN	CANTIDAD OBTENIDA (gramos)	RENDIMIENTO (%)	TIEMPO TOTAL (min)
IIIA	1,1	63,3	90
IIIB	0,9	52,6	110
MEDIA	1,00	57,95	100

Tabla 3: Resumen de los resultados obtenidos en los distintos ensayos de la reacción III, realizados por los analistas A y B.

Las cantidades obtenidas, así como el rendimiento, algo más bajo que en los casos anteriores (no llega al 60% de media), siguen siendo adecuadas para cumplir con los objetivos marcados. En este caso, a parte de la ya justificada diferencia entre el tiempo total y el tiempo de reacción descrito en el método, existen también diferencias notables entre los resultados observados en la reacción IIIA y la IIIB. Estas diferencias se deben probablemente a que para la reacción IIIA se utilizó un matraz que llevaba 24 horas en estufa, es decir, estaba completamente seco, mientras que para la IIIB se utilizó un matraz que se introdujo en la estufa antes de comenzar la preparación de los reactivos. Aunque se dejó unos 15 minutos extra para favorecer un mejor desecado (de ahí la diferencia de tiempo entre ambos experimentos), a resultados vista, parece que el rendimiento descendió en casi un 10%, debido probablemente a la humedad restante del matraz.

Nota: En este proceso es vital que la reacción se mantenga completamente anhidra, por lo que se añade la dificultad de manejar material de laboratorio de tal forma que se evite la entrada de agua en el matraz (mediante un el uso de un tubo de cloruro cálcico), por lo que la capacidad de preparación, agilidad y habilidad en el manejo resultan críticas para obtener un rendimiento adecuado. Además, también se requiere un buen equipo de filtración a vacío para favorecer la total sequedad de los reactivos utilizados, así como un lugar seco en el que guardar los reactivos en los periodos entre prácticas, siendo esto último difícil, ya que las taquillas guardan bastante humedad al guardarse en ella el material de vidrio recién lavado que aun está mojado.

Reacción IV: Desprotección del acetamino-*p*-bencenosulfatiazol (III) para la obtención del sulfatiazol (IV).

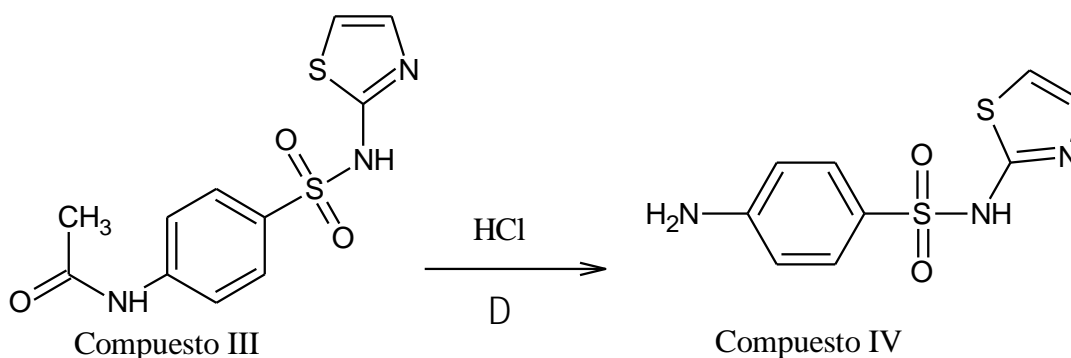


Figura 10: Esquema general de la reacción de desprotección.

REACCIÓN IV	Normalidad de HCl	Tiempo de reacción	Tiempo total medio	Desprotección
MÉTODO 1	2N	30 min	105	NO
MÉTODO 2	6N	30 min	130	NO
MÉTODO 3	2N	50 min	117,5	SI

Tabla 4: Resumen de las pruebas realizadas para llevar a cabo la desprotección.

Para la reacción de desprotección por hidrólisis se introduce la totalidad del producto obtenido en la reacción anterior, como se realizaron diferentes ensayos, la cantidad inicial de producto será diferente en los distintos métodos:

Método 1.

En este primer intento se dispusieron en el matraz de fondo redondo de 100 mL 1,1 gramos de *Compuesto III* en 10 mL de HCl 2M. Ésta mezcla se puso a reflujo con agitación magnética durante 30 minutos, transcurrido este tiempo la reacción se detuvo mediante la adición de NaHCO₃ al 10% (unos 20 mL) hasta alcanzar un pH de 7, el

precipitado resultante se filtró a vacío y se lavó con agua, de lo que se obtuvo un sólido pulverulento de color marrón muy similar al producto de partida.

Este compuesto se ensayó en ^1H -RMN, obteniendo un espectro en el que no se apreciaba desprotección alguna, por lo que se decidió volver a someter al producto, que no había sufrido cambios, a una nueva hidrólisis en condiciones diferentes.

Método 2.

En vista de los resultados anteriores, se decidió modificar la concentración del HCl, aumentándola esta vez a 6M, con la finalidad de aumentar la acidez y favorecer la desprotección.

Se disponía de 0,7 gramos de compuesto protegido, que se dispuso en un nuevo matraz de fondo redondo de 100 mL junto con 10 mL de HCl 6M y se puso a reflujo y bajo agitación magnética durante 30 minutos, tiempo tras el cual la reacción se detuvo mediante neutralización con 20 ml de NaHCO_3 al 10% y otros 12 mL de NaOH 3 M hasta alcanzar $\text{pH} = 7$.

Tras filtrar el precipitado y lavarlo con una pequeña cantidad de agua, el resultado fue un polvo fino de color muy suave, que se ensayó de nuevo en ^1H -RMN, donde se vio que de nuevo el producto no se había desprotegido, por lo que se siguió ensayando con él.

Método 3.

Para el inicio de esta reacción se contaba de nuevo con 0,7 gramos de compuesto protegido, que se introdujeron en un matraz de fondo redondo de 100 mL junto con 10 mL de HCl 2M. Esta mezcla se sometió a las mismas condiciones que la del método 1, (reflujo en placa calefactora con agitación magnética) pero esta vez durante 50 minutos, tal y como estaba descrito en el protocolo práctico mencionado en bibliografía (Jeff Boyle et al ^{13,14}).

Al finalizar los 50 minutos se utilizó el mismo procedimiento para detener la reacción que en el método 1, la adición de NaHCO_3 al 10%, salvo que en esta ocasión fueron necesarios entre 20 y 25 mL para lograr el $\text{pH} 7$.

El precipitado obtenido se filtró a vacío y se lavó con la mínima cantidad posible de agua, que dio lugar a un polvo marrón muy oscuro, que al ensayar en ^1H -RMN y ^{13}C -RMN reveló que sí se había producido la desprotección.

Nota: Es muy importante asegurarse de que los equipos que se utilizan estén en buen estado, por lo que se debe comprobar siempre que las placas calefactoras y de agitación funcionan correctamente, alcanzando una temperatura que permita la ebullición de la mezcla dentro del matraz.

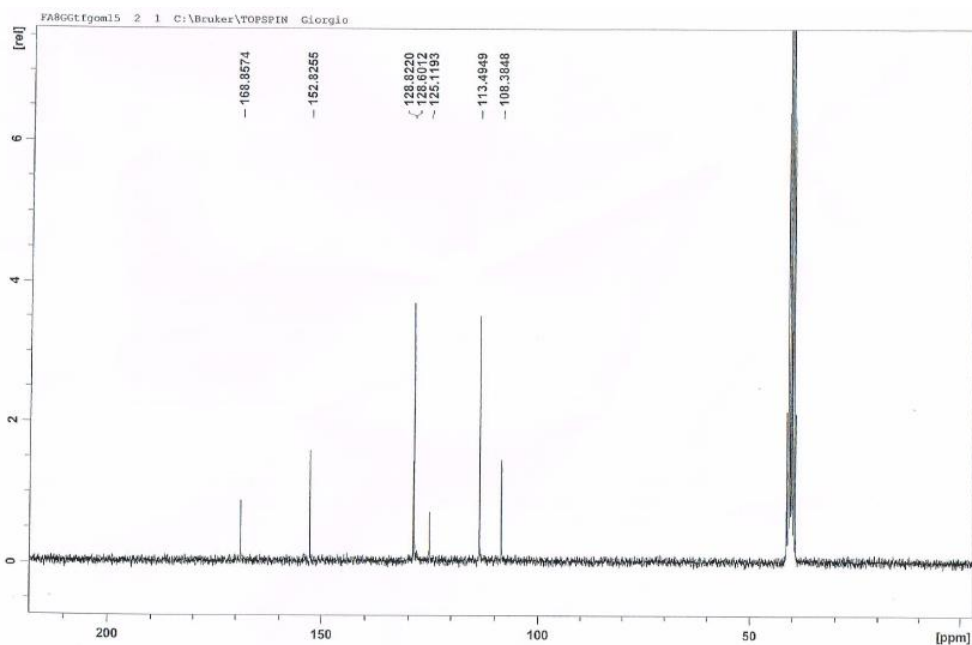


Figura 11: Espectro resultante de la caracterización del producto final mediante un ensayo de ^{13}C -RMN

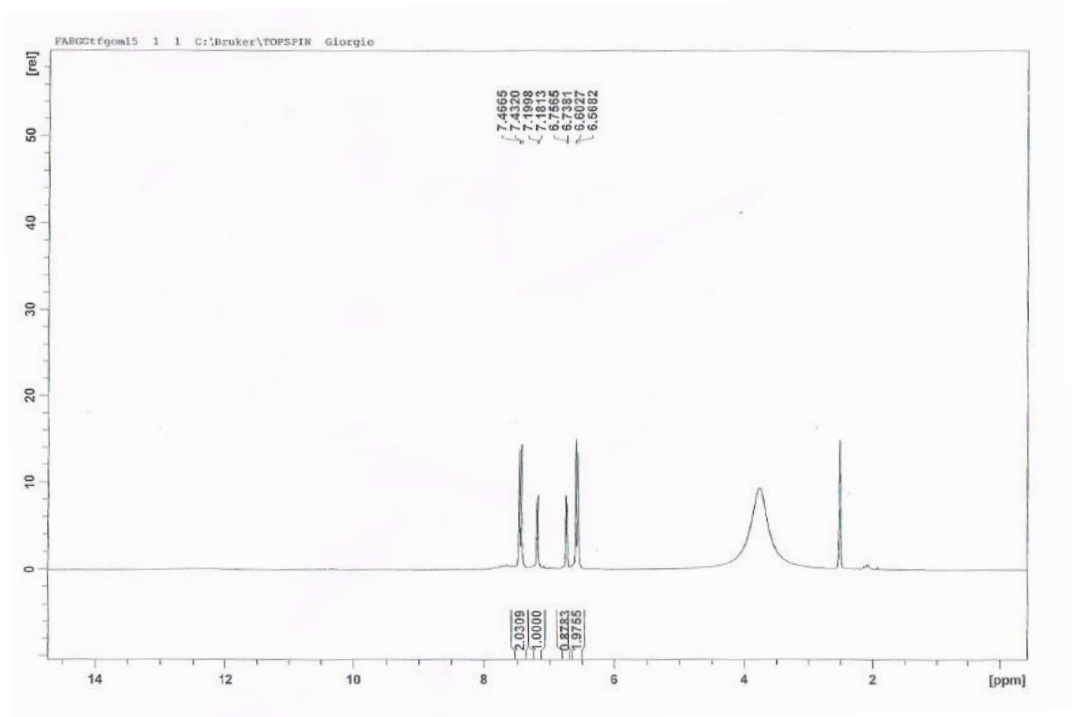


Figura 12: Espectro resultante de la caracterización del producto final mediante un ensayo de ^1H -RMN

CONCLUSIONES.

Tras una búsqueda en varias bases de datos acerca de los usos pasados y presentes de las sulfamidas, se encontró que, en los años posteriores a su descubrimiento, gracias a su gran selectividad, se utilizaron para el tratamiento de numerosas patologías provocadas por microorganismos sensibles y por ello se desarrollaron multitud de fármacos de este grupo con diferentes espectros de actuación. Sin embargo, a partir de la década de 1950, este auge comenzó a decaer debido la aparición de efectos adversos, el desarrollo de estrategias de resistencia por parte de las bacterias a las que se combatía, y al descubrimiento de nuevos antibióticos más seguros y eficaces.

Es por esto que actualmente este grupo de fármacos se encuentra prácticamente en desuso, ya que se utilizan, en combinación con otros compuestos, como tratamientos de segunda o tercera elección en prevención y tratamiento de patologías muy concretas, como pueden ser malaria, toxoplasmosis o alteraciones dermatológicas.

Con respecto a la parte experimental del proyecto, podemos concluir que los objetivos fueron cumplidos, obteniendo resultados muy próximos a los esperados.

Se comprobó que las reacciones que se querían introducir en la nueva ruta sintética (*Reacción III* y *Reacción IV*) tenían lugar en las condiciones del laboratorio de prácticas del departamento de Química Orgánica tras duplicar los pesos de los reactivos con respecto a los protocolos escogidos ^{13,14}, siempre con rendimientos adecuados y obteniendo cantidades de producto manejables por los alumnos.

Además, las reacciones se completaron en los tiempos adecuados, ya que ninguna de ellas (con preparación de equipos y productos, montaje y tiempo de reacción) llevó más de 130 minutos, esto es adecuado para el periodo de prácticas, de 15 horas por semana (dos semanas) en periodos de 3 horas cada día. La ruta sintética total de obtención del sulfatiazol llevaría al menos 3 días de prácticas, ya que es necesario que los productos obtenidos en las reacciones I y II se sequen completamente antes de continuar con el procedimiento.

Por todas estas razones se considera que es posible realizar esta ruta sintética en el laboratorio de prácticas.

BIBLIOGRAFÍA.

- ¹ G. Castañeda, Determinación de sulfamidas y sus potenciadores en productos farmacéuticos y zoonosanitarios, Tesis doctorales de la Universidad de Castilla la mancha. Capítulo II, 1994 (152 – 155).
- ² E.A Vives., M. V. Ventriglia, D. Medvedovsky, R. Rothlin. Quimioterápicos inhibidores de la síntesis de ácido tetrahidrofólico. 2004.
- ³ D. Byron, Trimethoprim – sulfamethoxazole: An overview 2015.
- ⁴ J.Mensa, J.M. Gatell, J.E. García Sánchez, E. Letang, E. López – Suñé, F. Marco. Guía terapéutica antimicrobiana 2013. 25 – 27.
- ⁵ Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS) y Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios (DGFP). Uso de antibióticos en España.
- ⁶ D. Vicente, E. Pérez-Trallero / Enfermedades Infecciosas en Microbiología Clínica. 2010;28(2):122–130.
- ⁷ Vademécum 2016, guía fármaco- terapéutica, índice por enfermedad, por clasificación ATC y por principio activo.
- ⁸ D. Radeva-Petrova , K. Kayentao , FO. ter Kuile , D. Sinclair, P. Garner. Drugs for preventing malaria in pregnant women in endemic areas: any drug regimen versus placebo or no treatment (Review), Cochrane Database of Systematic Reviews published by JohnWiley & Sons, Ltd. on behalf of The Cochrane Collaboration.
- ⁹ J. Thoden, A. Potthoff, J.R. Bogner, N.H. Brockmeyer, S. Esser, K. Grabmeier-Pfistershammer, B. Haas, K. Hahn, G. Härter, M. Hartmann, C. Herzmann, J. Hutterer, A. R. Jordan, C. Lange, S. Mauss, D. Meyer Olson, F. Mosthaf, M. Oette, S. Reuter, A. Rieger, T. Rosenkranz, M. Ruhnke, B. Schaaf, S. Schwarze, H.J. Stellbrink, H. Stoker, A. Stoehr, M. Stoll, C. Träder, M. Vogel, D. Wagner, C. Wyen, C. Hoffmann, Therapy and prophylaxis of opportunistic infections in HIV-infected patients: a guideline by the German and Austrian AIDS societies (DAIG/ÖAG) (AWMF 055/066), *Infection*, 2013.
- ¹⁰ A. Hotop, H. Hlobil and U. GroB. Efficacy of Rapid Treatment Initiation Following Primary *Toxoplasma gondii* Infection During Pregnancy.
- ¹¹ Institute for Medical Microbiology, German National Consulting Laboratory for Toxoplasmosis, University Medical Center Goettingen, and 2Advisory Laboratory for Toxoplasmosis, Sindelfingen, Germany

¹² L. Sánchez-Saldaña, E. Sáenz-Anduaga, J. Pancorbo-Mendoza, P. Lanchipa-Yokota³, R. Zegarra-Del-Carpio. Antibióticos sistémicos en dermatología, segunda parte: Tetraciclina, lincosaminas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, rifamicinas, cloranfenicol, ácido fusídico, metronidazol y nuevos antibióticos. *Dermatología peruana* 2004; vol 14: N°3.

¹³ J. Boyle, S. Otty and V. Sarojini: A safer and Convenient Synthesis of Sulfathiazole for Undergraduate Organic and medicinal Chemistry Classes. 2012; 89: 141 – 143.

¹⁴ J. Boyle, S. Otty and V. Sarojini: Supplementary Material: Laboratory Documentation for students and instructors. A safer and Convenient Synthesis of Sulfathiazole for Undergraduate Organic and medicinal Chemistry Classes.

¹⁵ A. Pérez Alba. Sulfamidas, trabajo de fin de grado: sulfamidas: aspectos farmacológicos y químico-farmacéuticos. Febrero 2016.

¹⁶ Departamento de química orgánica y Farmacéutica de la Facultad de Farmacia. Guía de prácticas de Química Farmacéutica I. 2013-2014.