

RESEÑA

## OBTENCIÓN DE NUEVAS CEFALOSPORINAS DERIVADAS DE ÁCIDOS $\alpha,\beta$ -INSATURADOS CON ACTIVIDAD FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

Zalua Rodríguez Riera

Licenciada en Química, Máster en Química Orgánica, Investigadora Auxiliar y Profesora Asistente.

Departamento de Síntesis, Centro de Química Biomolecular, Calle 200 y Avenida 21, Reparto Atabey, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

1ro de diciembre de 2010.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO DE DOCTORA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS.

Las bacterias del género *Staphylococcus* spp. son agentes etiológicos de infecciones muy severas y diversas relacionadas con el sistema nervioso central, el tracto genitourinario, la piel, los tejidos blandos, las vías respiratorias, así como con afecciones tales como otitis, osteomielitis y artritis.

Actualmente, se manifiesta la proliferación de bacterias de este género multiresistentes a la acción de numerosos agentes antimicrobianos como el *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SaRM) que clasifica como "supermicrobio". Este fenómeno ha hecho impostergable la necesidad de disponer de nuevos antibióticos con actividad antimicrobiana selectiva frente a estas bacterias. El primer antibiótico  $\beta$ -lactámico con actividad frente a ellas introducido en el mercado fue una cefalosporina, denominada ceftobiprol medocaril y en el 2010, se aprobó una segunda nombrada ceftarolina fosamil. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas cefalosporinas efectivas contra esas bacterias patógenas es una línea de investigación actual debido a las ventajas terapéuticas y al perfil de seguridad que presenta la familia de antibióticos respectiva.

El objetivo general de este trabajo consistió en obtener nuevas cefalosporinas derivadas de ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados y evaluar sus propiedades antibacterianas *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus* spp. Como núcleos cefalosporánicos se seleccionaron el ácido 7 $\beta$ -amino-3-acetoximetil-3-cefem-4-carboxílico (7-ACA) por constituir la materia prima fundamental de medicamentos de este tipo pertenecientes a las diferentes generaciones de comprobada efectividad terapéutica y el ácido 7 $\beta$ -amino-3-[(2,5-dihidro-6-hidroxi-2-metil)-5-oxo-*cis*-triazin-3-il]tiometil-3-cefem-4-carboxílico (7-ACT) que permite incorporar a los compuestos resultantes un fragmento molecular en la posición C-3 del núcleo cefalosporánico que proporciona elevados tiempos de vida media en el organismo, como en el caso de la ceftriaxona.

Como resultado, se sintetizaron 51 cefalosporinas no descritas con anterioridad a nivel mundial, mediante la acilación del 7-ACA y el 7-ACT con diferentes ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados portadores de sistemas aromáticos en su estructura con el empleo del método del reactivo de Vilsmeier. La estructura química de los compuestos obtenidos se confirmó por Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de Masas. De forma general, las nuevas cefalosporinas sintetizadas, pueden considerarse químicamente estables, ya que la presencia del doble enlace adyacente a un sistema aromático y a un grupo carbonilo genera una intensa conjugación en esta zona de la molécula, factor que proporciona a la función amida unida a C-7 $\beta$  una estabilidad muy superior en comparación a una amida típica.

Durante la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de todos de los compuestos sintetizados frente a cepas de *Staphylococcus* spp., se comparó con la desplegada frente a estas bacterias por una cefalosporina de primera generación (cefazolina) y otra de segunda generación (cefuroxima). El análisis frente a cepas ATCC permitió definir el espectro antimicrobiano de los productos sintetizados. Todos los compuestos evaluados fueron activos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e inactivos contra *Escherichia coli* ATCC 25922, por lo que se puede afirmar que muestran una actividad selectiva frente a bacterias Gram positivas.

Este comportamiento ocurre porque las nuevas cefalosporinas obtenidas presentan analogía estructural con los antibióticos cefalosporánicos de primera generación portadores en la posición C-7 $\beta$  de un fragmento molecular del tipo fenilglicina, el cual se ha demostrado que favorece la actividad frente a bacterias Gram positivas pues, debido a su relativa baja polaridad, facilita la penetrabilidad a través de la pared bacteriana de esta clase de microorganismos.

Durante la evaluación biológica, se obtuvieron 16 cefalosporinas con una concentración mínima inhibitoria (CMI) *in vitro*, frente a cepas sensibles de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativo, igual o inferior a 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , que es el valor considerado por muchos autores como límite para la aplicación de esta clase de antibióticos en la práctica clínica, lo que los convierte en candidatos promisorios para la terapia antiinfecciosa. De forma general, las cefalosporinas obtenidas a partir del 7-ACT desplegaron una actividad antibacteriana superior a las derivadas del 7-ACA.

Ninguna de las cefalosporinas obtenidas resultó efectiva frente a cepas resistentes a meticilina de *Staphylococcus aureus* (SaRM) y *Staphylococcus coagulasa* negativo (SCoNRM), aunque el compuesto obtenido a partir del 7-ACA y el ácido (2E)-3-(2,4-diclorofenil)acrílico con una CMI = 14  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , si bien no puede considerarse activo, despliega la mejor actividad antibacteriana *in vitro* contra este tipo de bacterias de todas las cefalosporinas evaluadas y pudiera constituir un punto de partida para la búsqueda de compuestos resistentes a meticilina más potentes.

Con los datos experimentales obtenidos correspondientes a la evaluación antibacteriana *in vitro* frente a cepas bacterianas de *Staphylococcus* spp., de las cefalosporinas derivadas de diferentes ácidos  $\alpha,\beta$ -insaturados sintetizadas, se obtuvo por primera vez, un modelo de regresión lineal múltiple de relación cuantitativa entre la estructura química y la actividad biológica para la serie de cefalosporinas estudiadas.

Como metodología de trabajo se siguió el procedimiento descrito en la literatura para el desarrollo de un modelo QSAR (Quantitative Structure Activity Relationships) en una serie de análogos estructurales. Así, una vez definidos los compuestos con sus respectivas actividades biológicas experimentales a incluir en la base de datos, se seleccionaron y calcularon teóricamente los parámetros químicos físicos (descriptores) a correlacionar con la actividad, se estableció la correlación matemática mediante un análisis estadístico y se interpretó desde el punto de vista químico farmacéutico la relación matemática establecida.

Como resultado, se obtuvo un modelo en el que la actividad antibacteriana frente a las cepas de SaSM, expresada como  $\log [1/\text{CMI}(\text{SaSM})]$ , se favorece al aumentar el valor de  $\log P$  (descriptor hidrofóbico) dentro de un rango fisiológico, mientras que el momento dipolar (descriptor electrónico) tiene una contribución negativa. Estos compuestos (como es típico para las cefalosporinas) tienen un valor negativo del  $\log P$ , por lo tanto, una vía para incrementar su actividad biológica frente a gérmenes Gram positivos como SaSM y SCoSM, consiste en aumentar la penetrabilidad a través de la pared bacteriana de estos microorganismos, que dada su naturaleza, se verá favorecida por un aumento de la lipofilidad del compuesto, hecho que se logra con la inclusión de sustituyentes que disminuyan la polaridad de las moléculas. De forma adicional, el modelo encontrado tuvo un carácter predictivo, lo que permitirá orientar el trabajo químico sintético con el fin de diseñar de forma racional nuevos derivados con una mayor potencia y un menor costo en la investigación.

La tesis está compuesta por tres capítulos, además de Introducción, Conclusiones y Recomendaciones para un total de 92 páginas, sin incluir las referencias bibliográficas. Consta de 26 tablas, 37 figuras, y 17 anexos, los cuales ofrecen una visión adecuada de los resultados del trabajo.

El capítulo I correspondiente a la Revisión Bibliográfica, aborda la clasificación, así como las características estructurales y microbiológicas de las diferentes generaciones de cefalosporinas y enfatiza el mecanismo de acción, la relación estructura-actividad (REA) y las principales causas de la resistencia bacteriana a los antibióticos. En la segunda parte de este capítulo, se revisan los métodos de síntesis que se utilizan en el trabajo, se describen las principales características de los estudios de modelación molecular y los antecedentes de estudios teóricos en este tipo de compuestos.

En el capítulo II referente a los Materiales y Métodos, se describen de manera secuencial y en orden cronológico, los reactivos y disolventes utilizados, los métodos generales y procedimiento de síntesis aplicados, al igual que la caracterización espectroscópica, la determinación de la actividad biológica *in vitro* y las herramientas computacionales empleadas en el estudio.

El capítulo III, se presentan los resultados y su discusión, en los que se exponen y analizan los principales resultados de la investigación. Este acápite consta de cuatro partes y está apoyado por tablas, esquemas y figuras que muestran los resultados. En la primera parte, se presentan los resultados obtenidos en la síntesis y caracterización estructural de compuestos derivados de 7-ACA y su posterior evaluación *in vitro*. De este experimento, se extrajo de forma satisfactoria una REA del tipo de compuestos obtenidos, la cual también se validó de forma colateral con los resultados de la literatura. Posteriormente, se describe una segunda parte para los derivados del 7-ACT, en la que también se examina la influencia de los sustituyentes en los ligandos (mono- y di- sustituciones). A continuación, se muestran los resultados obtenidos en el estudio QSAR desarrollado, para terminar con el cribado virtual de nuevos derivados y su posterior obtención.

El trabajo, se acompaña de 115 referencias bibliográficas, de las cuales un 54,8 % (63 referencias) corresponde a los últimos 10 años; un 18,3 % (21) al período 1990-1999 y un 26,9 % (31) a los años anteriores al 1990.

Los resultados del trabajo, se han presentado en cuatro eventos internacionales y se recogen en tres publicaciones en revistas de alto factor de impacto relacionadas con el tema en cuestión. Una de ellas es la revista *European Journal of Medicinal Chemistry*, actualmente con un factor de impacto de 3,269. Al artículo publicado en ella le fue conferida una Mención a nivel nacional en la categoría de Mejor Artículo Científico durante el XXX Concurso Premio Anual de la Salud en diciembre de 2005.

Este trabajo aborda un tema de gran actualidad e importancia práctica dentro de la química médica, al enmarcarse en la búsqueda de nuevas cefalosporinas efectivas contra bacterias del género *Staphylococcus* spp. Constituye un importante material de necesaria consulta para las instituciones académicas interesadas en la obtención de nuevos y mejores agentes antimicrobianos, pues también muestra cómo los estudios teóricos contribuyen a obtener una descripción más detallada a nivel molecular del fenómeno estudiado. En este sentido, la metodología de trabajo constituye una referencia importante en el campo de las cefalosporinas y a su vez, una de las primeras experiencias en Cuba.