

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
NUEVOS ANTINEOPLÁSICOS
DERIVADOS DEL
5-FLUOROURACILO**

Antonio Correa García

Este trabajo ha sido realizado íntegramente en los laboratorios del departamento de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada bajo la dirección del profesor D. Antonio Espinosa Úbeda y del profesor D. José Francisco Domínguez Seglar.

Granada, Marzo 1996.

El director del departamento:

Firmado: Antonio Espinosa Úbeda.

Los directores del trabajo:

Firmado: Antonio Espinosa Úbeda,
Catedrático de Química Orgánica
Aplicada

Firmado: José Francisco Domínguez
Seglar, Profesor titular de Química
Orgánica.

Memoria presentada por Antonio Correa García para optar al grado de Licenciado en Farmacia.

Firmado: Antonio Correa García.

A Pedro
A Antonio

AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo agradecimiento a todas las personas que han contribuido a la realización de este trabajo.

Al profesor Dr. D. Antonio Espinosa Úbeda, Catedrático de Química Orgánica Aplicada, por su interés y dedicación en la realización de este trabajo.

Al Profesor D. José Francisco Domínguez Seglar, por la inestimable ayuda prestada y por su constante apoyo durante la realización de este trabajo.

Al resto del personal del departamento de Química Orgánica por su afecto y facilidades ofrecidas.

A los Servicios Técnicos de la Universidad de Granada por la realización de todas las técnicas espectroscópicas.

A los laboratorios Knoll por su colaboración en la realización de los ensayos biológicos sobre la línea celular HT-29.

A la profesora Daniella Barloco (Milano) y la Dra. María Paola Costi (Módena) por la realización de las pruebas de inhibición enzimática.

ÍNDICE

1.-	INTRODUCCIÓN	1
2.-	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	7
2.1.-	Reacciones de formación de amidas	8
2.2.-	Derivados de 5-fluorouracilo	12
3.-	PARTE TEÓRICA	23
3.1.-	Preparación y caracterización de las materias primas 19-24	27
3.1.1.-	Síntesis de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina 19	28
3.1.2.-	Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)-etilendiamina 20	38
3.1.3.-	Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,3-propanodiamina 21	43
3.1.4.-	Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-butanodiamina 22	48
3.1.5.-	Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α, α' -diaminometaxileno 23	52
3.1.6.-	Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α, α' -diaminoparaxileno 24	60
3.2.-	Preparación y caracterización de los condensados con 5-fluorouracilo 25-29	65
3.2.1.-	Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorourcil-1-il)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina 25	67

3.2.2.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]-1,3-propanodiamina 26	75
3.2.3.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina 27	79
3.2.4.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminometaxileno 28	83
3.2.5.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminoparaxileno 29	87
4.- ENSAYOS BIOLÓGICOS	93
5.- PARTE EXPERIMENTAL	96
5.1.- Consideraciones generales	97
5.2.- Materias primas	98
5.2.1.- Síntesis de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- etilendiamina 19	98
5.2.2.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)- etilendiamina 20	99
5.2.3.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- -1,3-propanodiamina 21	100
5.2.4.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- -1,4-butanodiamina 22	101
5.2.5.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminometaxileno 23	102
5.2.6.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminoparaxileno 24	103
5.3.- Condensados con 5-fluorouracilo	104
5.3.1.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]-etilendiamina 25	104
5.3.2.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]-1,3-propanodiamina 26	106
5.3.3.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)- 3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina 27	107

5.3.4.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il) 3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminometaxileno 28	109
5.3.5.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il) 3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminoparaxileno 29	110
6.- CONCLUSIONES	112
7.- BIBLIOGRAFÍA	114
8.- APÉNDICE	124

INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

El diseño racional de fármacos es uno de los grandes objetivos de los químicos farmacéuticos. En este sentido el interés en la síntesis y actividad de derivados de nucleósidos ha experimentado un notable aumento en la última década como consecuencia de su creciente utilización en diversas áreas terapéuticas.

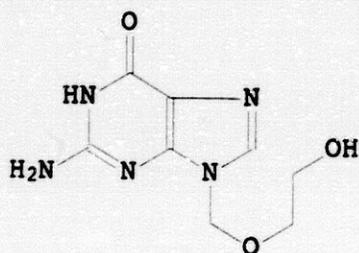
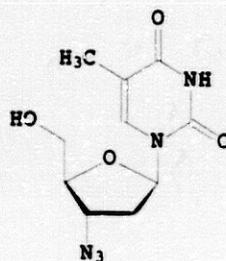
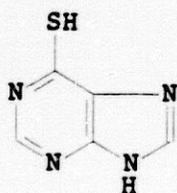
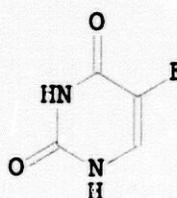
Así, ejemplos notables de compuestos que han demostrado su eficacia son, el aciclovir **1**, uno de los viroestáticos más empleados, o el AZT **2**, empleado en el tratamiento del SIDA.

Así mismo estos derivados nucleósidos tienen también una aplicación importante en la quimioterapia del cáncer.

Fue G. B. Elion¹ quien introdujo la 6-mercaptopurina **3** en el tratamiento de ciertas formas de leucemia, como inhibidor de la primera fase de la síntesis de purinas.

En 1957 C. Heidelberger² utiliza análogos pirimidínicos para interferir la síntesis del DNA. Dentro de estos compuestos destaca el 5-Fluorouracilo **4**.

El 5-Fluorouracilo (5-FU) es una pirimidina fluorada descrita por R. Duschinsky y E. Plevén³⁻⁵ que se emplea como fármaco de primera elección en algunos adenocarcinomas⁶ del tubo digestivo (colon, páncreas, estómago), de mama y con menor frecuencia en hepatomas, carcinomas de ovario, próstata, cuello uterino, vejiga urinaria y orofaringe.

**1****2****3****4**

El 5-FU actúa sobre las células por dos mecanismos distintos⁷:

- Inhibición de la timidilato sintetasa.
- Incorporación al RNA provocando síntesis anómala de proteínas.

Aunque el 5-FU tiene un efecto beneficioso sobre algunos tumores humanos, también se han descrito algunas manifestaciones tóxicas⁸.

Esta alta toxicidad presentada por el 5-FU, ha motivado una constante investigación con el fin de encontrar derivados de mayor potencia y menor efecto tóxico. Se han descrito trabajos de grupos japoneses e ingleses que presentan profármacos de 5-FU, en los que se unen, tanto restos cíclicos⁹⁻¹¹ como acíclicos¹²⁻¹³, e incluso fragmentos de aminoácidos¹⁴; algunos ejemplos de los cuales hemos recogido en la figura 1.

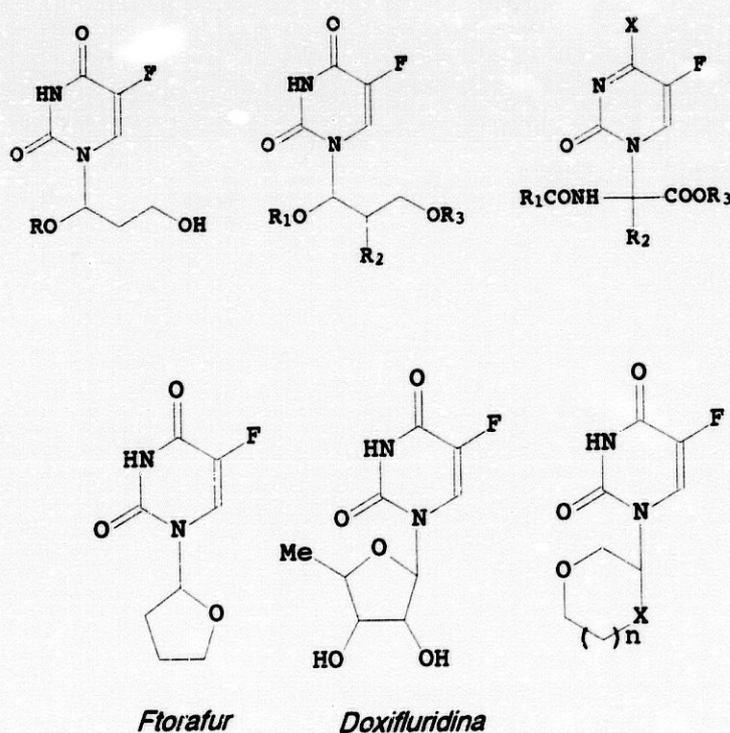


Figura 1.- Principales ejemplos de farmacomodulación del 5-FU.

En esta línea, nuestro grupo de investigación viene desarrollando desde hace un tiempo un importante trabajo de farmacomodulación¹⁵ sobre estructuras que responden al esquema mostrado en la figura 2.

Este tipo de moléculas están consideradas como profármacos del 5-FU, ya que como consecuencia de que en el interior de la célula tumoral el pH es

más ácido que en las células sanas, este hecho provoca la ruptura de la molécula, como se señala en la figura 2, liberándose 5-FU y acroleína, que también contribuye a la acción antitumoral por su conocido efecto citotóxico.

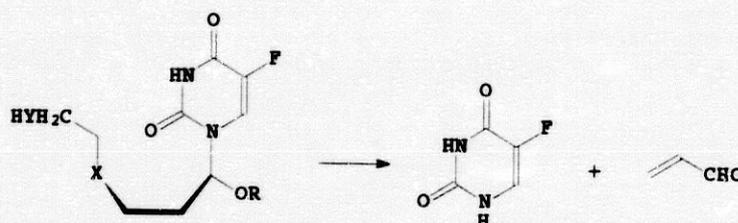


Figura 2.

En esta memoria se ha desarrollado la síntesis, caracterización y estudio de la actividad antitumoral de los compuestos representados con estructura general I recogidos en la figura 3.

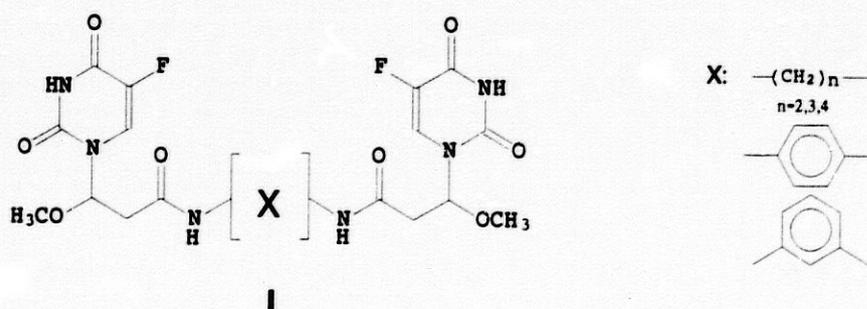


Figura 3.

Para estos compuestos, el objetivo principal es que el fragmento químico que soporta las moléculas de 5-FU sea un vehículo efectivo que permita una mejora importante en los parámetros farmacocinéticos del agente citostático 5-FU.

Con este propósito hemos variado X, introduciendo fragmentos tanto alifáticos como aromáticos, a fin de modificar la lipofilia y también las

características mecánicas de la molécula.

Así mismo hemos empleado una secuencia común reconocible por la célula como es el enlace tipo amídico que, a semejanza del enlace peptídico, presente en las proteínas, proporcione una entrada más factible y una mejor distribución en el interior de la célula.

Además esta estructura general también nos va a permitir en un futuro próximo un cambio de base, sustituyéndola por otra, bien sea de tipo pirimidínico o púrico, en este caso tendría especial interés la unión de un resto de 6-mercaptopurina, la cual, como ya hemos mencionado antes tiene probada eficacia como citostático. O bien, otra posibilidad consiste en la introducción de grupos planos, cargados positivamente, con la finalidad de permitir su acción como agentes bis-intercalantes. No obstante estas variaciones quedan para trabajos posteriores, actualmente en curso.

**ANTECEDENTES
BIBLIOGRÁFICOS**

2.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.

Al objeto de sistematizar la revisión bibliográfica, hemos considerado conveniente dividir estos antecedentes en dos grandes apartados.

- Reacciones de formación de amidas.
- Derivados de 5-Fluorouracilo.

2.1.- Reacciones de formación de amidas.

Dentro de las distintas posibilidades de formación de enlaces de tipo amida, hay que recordar que éste se puede conseguir mediante la utilización de un ácido carboxílico y una amina o bien, usando un derivado de ácido, que puede ser un haluro de ácido, un anhídrido o un éster, siendo este mismo el orden de reactividad.

En este sentido, nos encontramos que para la síntesis de amidas secundarias partiendo de ácidos carboxílicos, se podría utilizar el método

convencional de síntesis de péptidos¹⁶⁻²⁰, que utiliza la dicitohexilcarbodiimida (DCC) cuya función es la de activar el grupo carboxílico mediante la formación de una O-acilurea, un éster activo, para que tras la posterior sustitución nucleofílica de la amina de lugar a la amida. Este método suele incorporar la presencia de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) como agente capaz de evitar la racemización²¹.

Otros métodos de síntesis peptídica utilizan soportes poliméricos con la posibilidad de servir no sólo para la síntesis de péptidos sino para cualquier otra síntesis orgánica, así Horiki²² propone la utilización de un polímero de trifenilfosfina y 2,2'-dipiridilsulfuro junto al ácido y el aminoácido-C-protégido.

En el campo de las amidas, en un trabajo de Hruby y colaboradores²³, se recoge un método de síntesis de estas utilizando una mezcla de trifenilfosfina y tetracloruro de carbono, se forma así un aducto al que se adiciona el ácido carboxílico formándose un cloruro de trifenilaciloxifosfonio que sufre el ataque de la amina. En este mismo trabajo, otro procedimiento sustituye el tetracloruro de carbono por el bromotriclorometano, pudiéndose aplicar este último método a la síntesis de péptidos.

Aunque si bien este método dio unos buenos rendimientos en la preparación de amidas alifáticas y aromáticas, cuando posteriormente Liu y colaboradores²⁴ lo aplican a la obtención de diamidas el rendimiento baja considerablemente para situarse en torno al 60%.

En este apartado Melchiorre y colaboradores²⁵ sintetizan una serie de diamidas partiendo de los correspondientes ácidos carboxílicos y utilizando como catalizador clorocarbonato de etilo y trietilamina en dioxano al objeto de formar el éster activado que después se rompe con la diamina. En este caso los rendimientos oscilan alrededor del 70%.

Otras posibilidades de formación de enlace amida mediante la utilización de derivados de ácido, varían en la metodología de trabajo en función del derivado utilizado, así como en los rendimientos obtenidos. De este modo para los más reactivos, los cloruros de acilo, existen antecedentes en los que se describe la obtención del producto mediante un simple calentamiento de la mezcla de reacción²⁶; otros adicionan piridina al objeto de retirar el HCl formado²⁷ y todavía otros más sofisticados utilizan catalizadores más complejos del tipo CoCl_2 ²⁸.

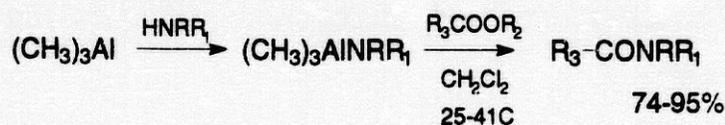
A pesar de la enorme reactividad de estos derivados, todavía se plantea un problema al pasar a la preparación de las diamidas. Así los rendimientos son diferentes en función de los sustratos utilizados para la reacción, de esta forma encontramos, que aunque para los derivados de ácidos dicarboxílicos con monoaminas los productos se obtienen con muy buenos rendimientos (90%)²⁹, sin embargo, para aquellos compuestos diaminados con cloruros de acilo en presencia de trietilamina apenas se obtienen con un 50% de rendimiento³⁰.

Una tercera posibilidad es la de utilizar como derivado de ácido los correspondientes ésteres para que reaccione con la diamina. Aunque la bibliografía es también extensa para el caso de obtención de amidas primarias, no lo es tanto para las secundarias. En un trabajo de De Feonald³¹, estudiando la influencia de la estructura sobre la reactividad, se describe la utilización de ésteres (propionatos y benzoatos) fundamentalmente etílicos en reacción con aminas aromáticas y una alifática, la ciclohexilamina, en presencia de metóxido sódico como catalizador (relación molar 1:1:1), para obtener las amidas en rendimientos aceptables (aprox. 70%).

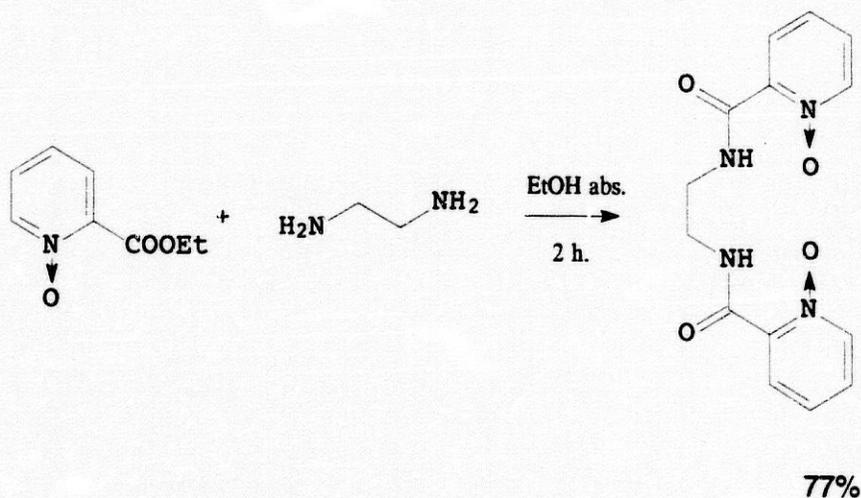
Más recientemente Yazawa y colaboradores³², aplican la catálisis del tribromuro de boro a la síntesis de amidas y reacciones de transesterificación, partiendo de ésteres carboxílicos y obteniendo rendimientos que van de

discretos a buenos.

Entre los métodos de aminólisis de ésteres se encuentra el descrito por Basha y colaboradores³³, en el que se cuida que no exista una catálisis fuerte que podría perjudicar a otros fragmentos estructurales de la molécula, así como evitar altas temperaturas o largos tiempos de reacción. Este método utiliza el trimetilaluminio que reacciona mol a mol con las aminas primarias y secundarias a temperatura ambiente dando dimetilaluminamida con desprendimiento de metano. La adición de un éster a este reactivo seguido de un leve calentamiento conduce a la amida en altos rendimientos.

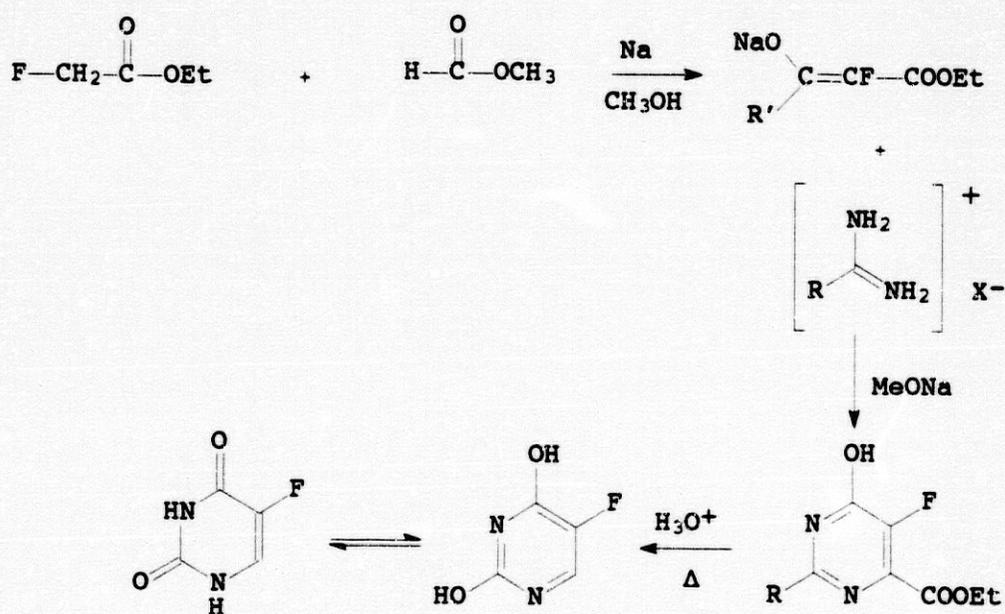


En un trabajo posterior de Phillips y Rae³⁴, para la preparación de diamidas, se describe que el método más satisfactorio de obtener un derivado de la etilendiamina es dejarla en agitación junto con el éster etílico en etanol absoluto, recogiendo la diamida con un rendimiento del 77%.



2.2.- Derivados de 5-Fluorouracilo.

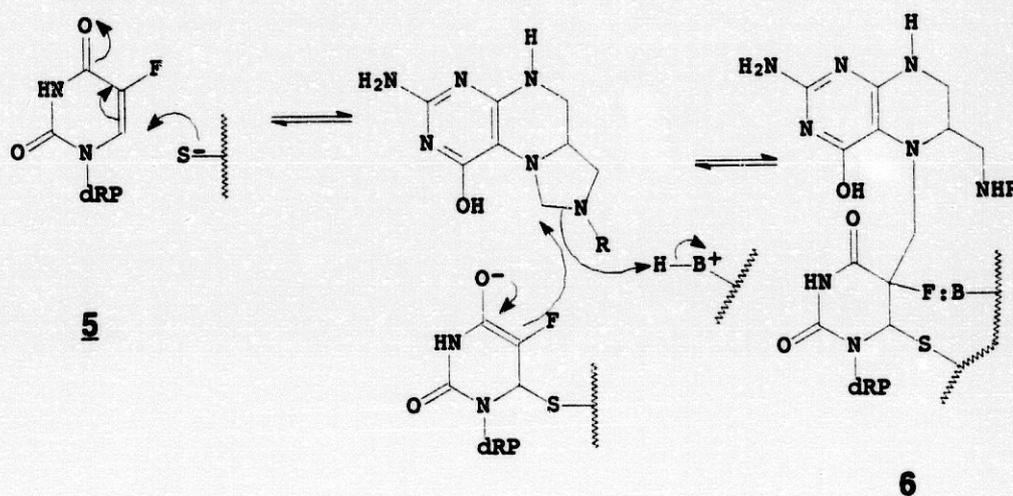
El 5-Fluorouracilo (5-FU) fue sintetizado, en los laboratorios de la Hoffmann-La Roche, mediante una adaptación de la síntesis de Wheeler³⁵⁻³⁶ por condensación de sales de S-alquil-isotiuronio y los correspondientes enolatos de α -fluoro- β -cetoésteres. Así una condensación de Claisen entre el fluoroacetato de etilo y formiato de metilo conduce a la sal sódica del 2-fluoro-2-formilacetato de etilo ($R'=H$), que se condensa con el bromuro de 2-etil-isotiuronio, dando 2-etilmercapto-5-fluoro-4(3H)-pirimidona y tras una hidrólisis ácida, se obtiene el correspondiente 5-fluorouracilo **4** con buenos rendimientos (72%).



4

El mecanismo de acción del 5-FU está bien establecido y se basa en que debido a la presencia del átomo de flúor en el carbono 5 hace que su metabolito activo, el 5-fluoro-2'-desoxiuridin-5'-monofosfato **5**, inactive la timidilato sintetasa

al formar un complejo terciario muy estable **6**, y debido a la ausencia del protón en el C-5, la enzima no puede eliminar el tetrahidrofolato y se comporta por tanto como un inhibidor irreversible.

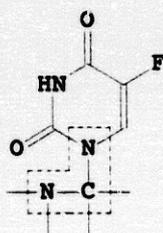


Además el 5-FU, convertido en 5-FUTP, se incorpora progresivamente al RNA interfiriendo así su procesamiento y su función específica.

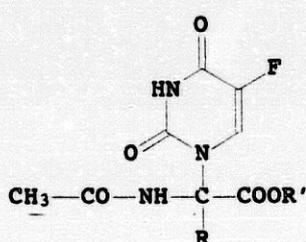
Sin embargo, esta importante acción antitumoral no está exenta de toxicidad. Tal toxicidad puede manifestarse de forma precoz con anemia, náuseas, vómitos y vértigos; o manifestarse más tardíamente con efectos derivados de trastornos digestivos (estomatitis ulcerativa, enteritis, diarrea), trastornos dermatológicos (dermatitis, alopecia, trastornos tróficos de la piel y formas cutáneas.), mielodepresión (que se presenta con leucopenia y trombocitopenia) y efectos neurotóxicos (trastorno mental, ataxia cerebelosa).

Como consecuencia de esto, se han desarrollado una serie de compuestos que enmascaran el 5-FU, con toxicidad más reducida, actuando como auténticos profármacos que se degradan en el organismo liberando el 5-FU in situ.

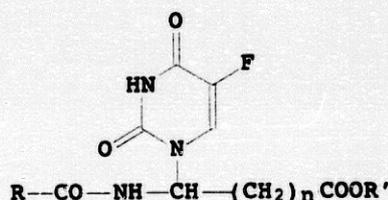
Un importante grupo de estos compuestos son los derivados tanto de aminoácidos, como de restos polipeptídicos. En cuanto a los pirimidil aminoácidos, han sido estudiados por M. Miyoshi³⁷ en los laboratorios Tennabe Seiyaku en Osaka (Japón). Son productos con una asociación diaminogeminal Z, destacan los derivados de 2-acetamido-2-(5-fluorouracil-1-il)glicinatos 8, 3-acilamino-3-(5-fluorouracil-1-il)-propionatos y 4-diacilamino-4-(5-fluorouracil-1-il)-butiratos 9.



7

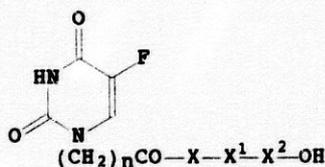


8

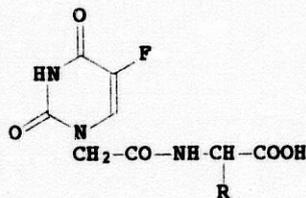


9

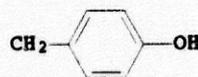
Otro tipo de compuestos con estructura pirimidil asociado a aminoácidos o péptidos pero sin carácter diaminogeminal son los recogidos en los trabajos llevados a cabo por Renxi Zhuo³⁸⁻⁴⁰ y colaboradores en el Departamento de Química de la Universidad de Wuham (República Popular China).



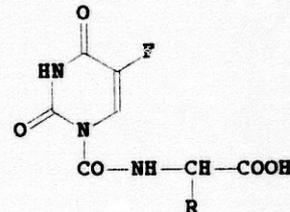
10



R: CH₂-CH₂-COOH



11

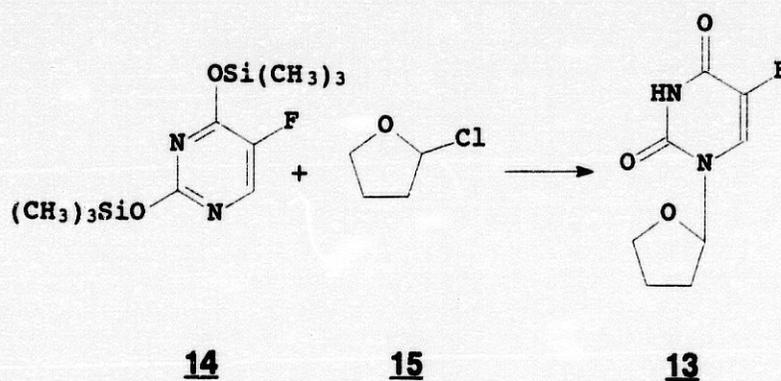


R: H
Me₂CH
Me₂CHCH₂
EtMeCH
PhCH₂

12

Los productos con la estructura mostrada en **10** son derivados dipeptídicos (X^1-X^2 =Gly-Gly, Gly-Phe, Gly-Leu) y tripeptídicos ($X-X^1-X^2$ =Gly-Gly-Phe, Val-Leu--Gly).

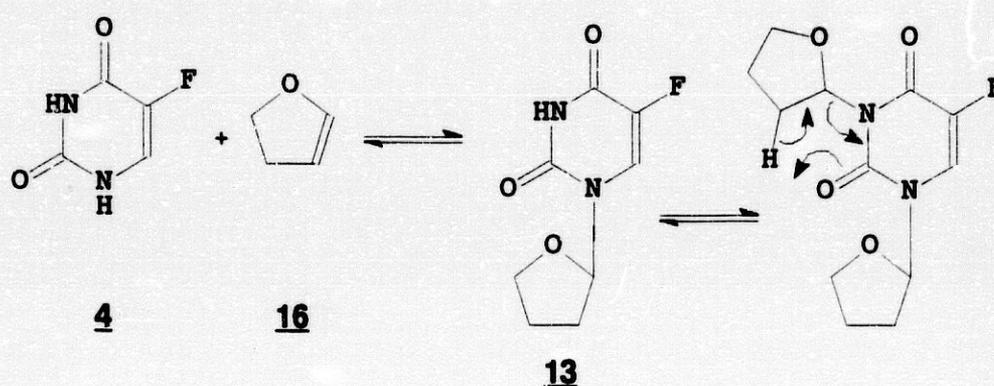
En otra serie de profármacos del 5-FU se prepararon nucleósidos y pseudonucleósidos del 5-fluorouracilo. Dentro de este grupo encontramos primeramente el Ftorafur (FT)**13**, que fue descrito por S.A. Hiller y R.A. Zhuk⁴¹. La síntesis fue realizada por condensación del bistrimetilsilil derivado del 5-fluorouracilo **14** y 2-clorotetrahidrofurano **15**.



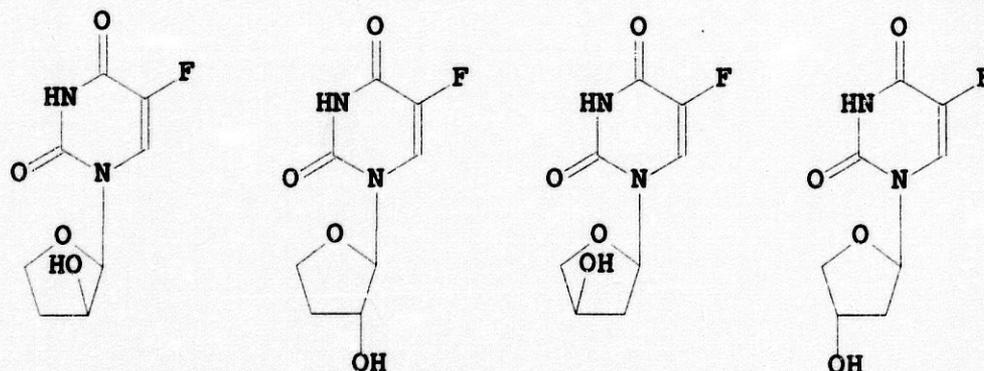
La actividad de este compuesto promovió la búsqueda de nuevas rutas sintéticas, así, se llevo a cabo la síntesis del Ftorafur por fluoración directa⁴² como paso terminal, o por simple calentamiento del 5-fluorouracilo con los correspondientes 2-alcoxitetrahidrofuranos⁴³⁻⁴⁴.

Posteriormente M. Yasumoto⁴⁵ y colaboradores estudiaron las reacciones de condensación entre el triometilsilil derivado del 5-fluorouracilo y 2-acetoxitetrahidrofurano o 2-metoxitetrahidrofurano empleando catalizadores de Friedel-Crafts o NaI. El mejor rendimiento (91-93%) fue obtenido con una proporción de base, furano y SnCl_4 de 1.0 : 2.0 : 0.01 ó 0.1.

Por otra parte, el equipo de H. Nomura⁴⁶, encontró que la adición directa de 5-FU **4** a 2,3-dihidrofurano **16** tiene lugar lentamente, en un disolvente aprótico, a temperatura elevada y da lugar a 5-fluorouracilos tetrahidro-2-furilados con alto rendimiento.

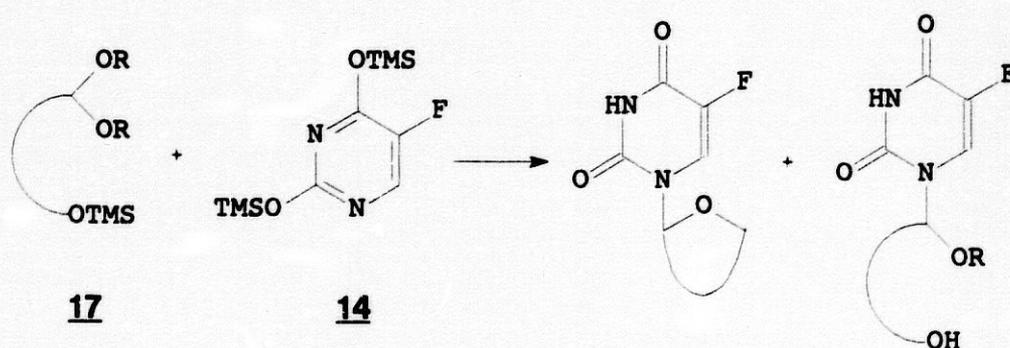


En la búsqueda de nuevos antitumorales que fueran más activos que el 5-fluorouracilo y que el propio Ftorafur, continuaron los estudios, introduciendo nuevos sustituyentes en el anillo de furano. Destacan los trabajos de Ai Jeng Lin⁴⁷ y colaboradores en la Universidad de Texas, que prepararon los cuatro isómeros monohidroxilados en las posiciones 2 y 3 del anillo tetrahidrofuránico, posibles metabolitos del Ftorafur. Estudios clínicos sugieren que el Ftorafur y sus metabolitos hidroxilados protegen selectivamente la mucosa gastrointestinal de la toxicidad del 5-FU.

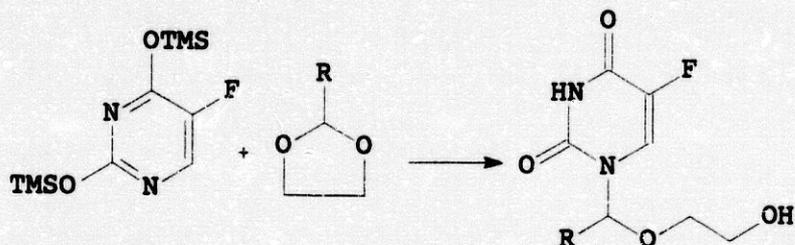


En 1978 se publica un nuevo método de silanización de las bases heterocíclicas⁴⁸. En este método el proceso se lleva a cabo in situ y en una sola etapa, tratando la base correspondiente con hexametildisilazano (HMDS) y trimetilclorosilano (TMCS) con ácidos perfluoroalcanos-sulfónicos, perclóricos o ácidos de Lewis.

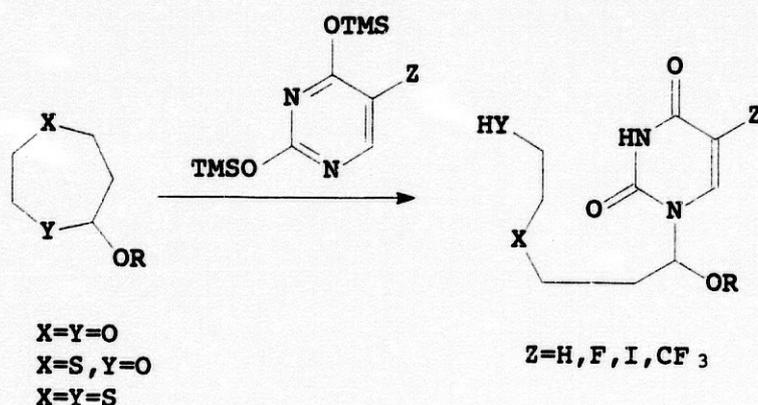
Así pues, T. Iwasaki⁴⁹ y colaboradores orientan sus trabajos a la búsqueda de agentes antitumorales utilizando una nueva metodología sintética para obtener derivados del 5-fluorouracilo con mitades heterocicloalcanicas. Es un proceso en el que intervienen trimetilsililoalcanales dialquilacetales (TMS acetal) **17** y el 2,4 -bis-(trimetilsilil)-5-fluorouracilo (TMS-5-FU) **14**, catalizados por ácidos de Lewis.



Otro método de síntesis para aciclonucleósidos, fue descrito por K. Ochi¹³ y colaboradores en Japón. Los derivados bis-(trimetilsililéteres) de uracilos, reaccionan con 1,3-dioxolanos-2-sustituídos, en presencia de ácidos de Lewis, para formar 1-[α -(2-hidroxietoxi)-alquil]-uracilo.



Por modificación del método de Iwasaki, el grupo del Prof. Espinosa¹⁵ desarrolló una nueva reacción para la síntesis de aciclonucleósidos pirimidínicos, basada en la apertura regioespecífica de alcoxi-1,4-diheterocicloheptanos **18**, bajo catálisis con SnCl₄



18

Este tipo de productos, además de actuar como eficaces transportadores del 5-fluorouracilo, son capaces de metabolizarse, y una vez descargado el 5-FU, se establece un equilibrio entre el hemiacetal y su aldehído correspondiente, proceso que debido al pH más bajo que existe en el interior de la célula cancerosa respecto al exterior de esta y de la célula normal, permite

una β -eliminación liberando acroleína. (Figura 4).

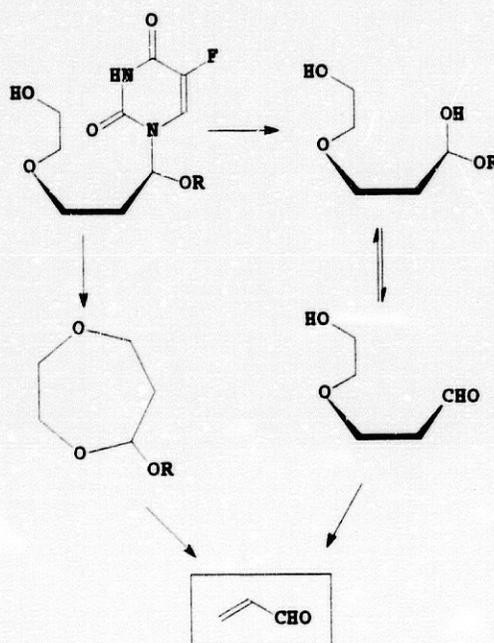
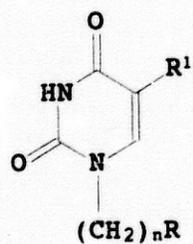


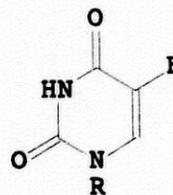
Figura 4.

Otros derivados del 5-fluorouracilo con otras funciones diferentes entre las que se incluyen nitrilos, ácidos, ésteres, alcoholes y β -aminoácidos son las sintetizadas por Hee Joo Lee⁵⁰ y colaboradores y por Jack C. Kim⁵¹ y colaboradores.

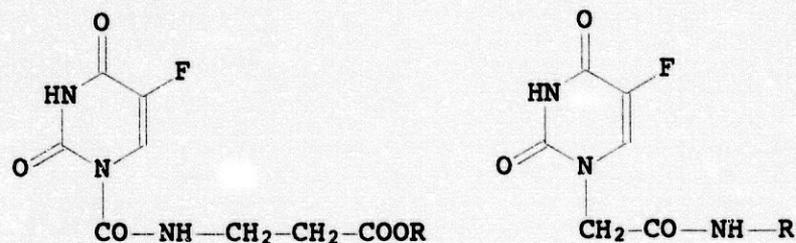


R: CN, Ac

R¹: H, Br, Cl, F, I, Me

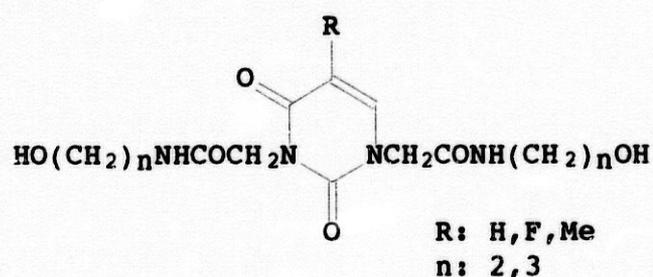


R: CONHCH₂CH₂COEt
CH₂CONHR'

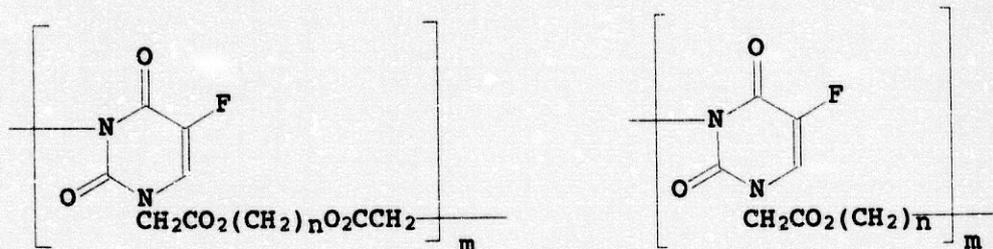


R: Hexil
 CH₂COOH
 CH₂COOR
 CH₂CONHCH₂COOH

De entre las numerosas estructuras derivadas del 5-fluorouracilo que han sido sintetizadas por el grupo de Renxi Zhuo y colaboradores en el departamento de química de la universidad de Wuham (República Popular China) ya hemos comentado algunos derivados de aminoacil-5-fluorouracilos y peptidil-5-fluorouracilos, pero el trabajo de estos investigadores abarca una serie de derivados poliméricos del 5-FU mucho más extensa, así, por ejemplo se han preparado productos N¹-N⁵-bis-sustituídos⁵², o 1⁴-hidroxialquil-5-fluorouracilos y ácidos α-5-fluorouracil-N¹-dicarboxílicos⁵³.

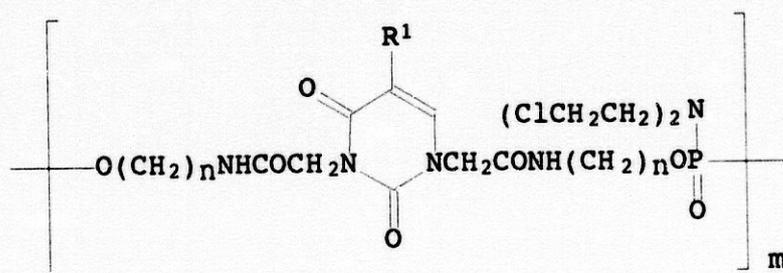


También tienen bastante importancia los diversos polímeros que han sido sintetizados por el grupo de Renxi. Podemos citar conjugados de poliaspartamida con 5-fluorouracilo⁵⁴, poliésteres^{55,56}, poliarilésteres⁵⁷, polietilenimina⁵⁶, ésteres de polifosfato^{59,60} y polifosfamidás⁶¹.



Esta serie de polímeros liberan el 5-FU en el organismo, actuando de este modo como eficaces transportadores de la molécula farmacológicamente activa y presentando todos ellos una toxicidad menor que el 5-fluorouracilo.

Un caso peculiar dentro de estos polímeros lo constituye un polifosfato que además de contener la molécula de 5-FU, también lleva unida en el monómero una molécula de mostaza nitrogenada⁶².



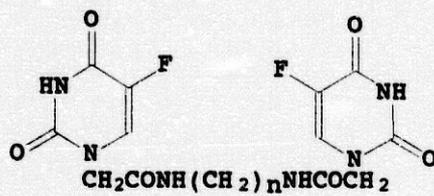
R¹: H, F, Me

n: 2, 3

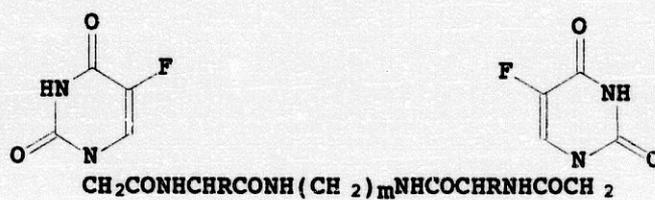
La actividad antitumoral de este compuesto ha sido probada sobre ratones con tumores EAC, HSC y S₁₈₀.

Finalmente tienen un interés especial dentro de esta serie, los compuestos preparados por Qusheng y Weidong⁶³, en los que se incorporan dos moléculas de 5-fluorouracilo en una cadena de diamida o bien de

aminoacidildiamida como se muestran a continuación y que han mostrado actividad antitumoral en ratones.



$n: 2, 6$



R: H, Me, PhCH_2

$m: 2, 6$

**PARTE
TEÓRICA**

3.- PARTE TEÓRICA.

En la presente memoria hemos llevado a cabo la síntesis y caracterización de una serie de compuestos **19-29**, agrupados en dos familias estructurales y representados en la figura 5, de los cuales los representados por las estructuras **25-29** pueden ser considerados como profármacos del compuesto antitumoral 5-FU y a los que a algunos de ellos (**25** y **28**) se les ha determinado la actividad biológica.

Dentro de las características estructurales de estos compuestos, hay que considerar dos partes diferentes: la cadena central o esqueleto hidrocarbonado y los extremos terminales. La parte central está constituida por una cadena de longitud variable y carácter diferente; así se han preparado una serie alifática con longitud variable en 2, 3 ó 4 átomos de carbono y una serie aromática, consistente en un anillo de fenileno con una doble sustitución meta o para. En esta cadena, además, existen enlaces tipo amida, que sin llegar a tener las propiedades peculiares del enlace peptídico, si que pueden recordar a algunas

de ellas, como son la posibilidad de formar puentes de hidrógeno que pueden ser útiles tanto para el reconocimiento molecular como para su fijación al sitio activo.

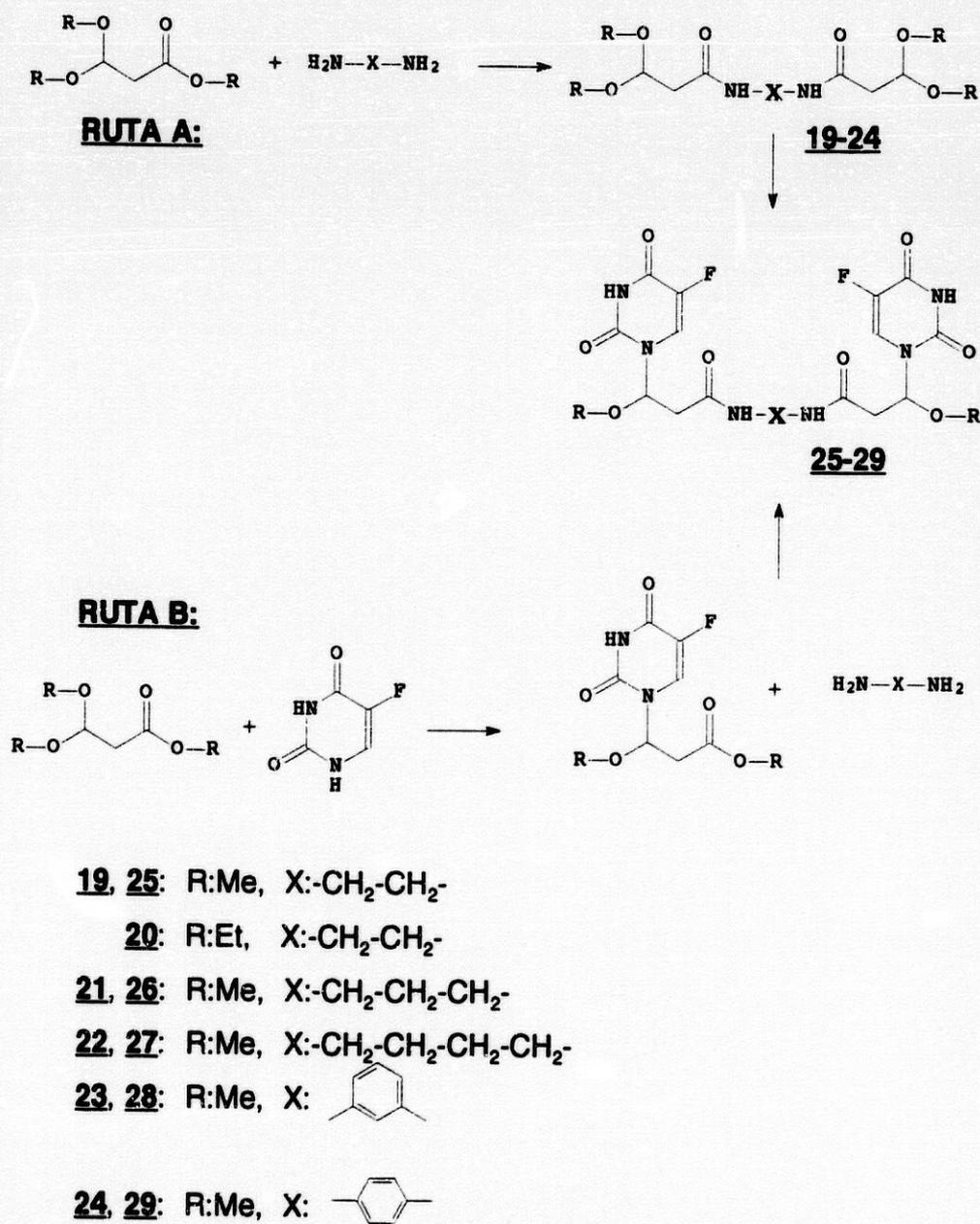


Figura 5.

La otra parte de la molécula tiene como característica a destacar, en los productos finales, la inclusión en cada molécula de dos fragmentos de 5-fluorouracilo, unidos por el N-1, en los extremos terminales de la cadena, unión que se hace por medio de un enlace de tipo hemiaminal, el cual va a permitir la fácil liberación del 5-fluorouracilo en el momento de producirse la hidrólisis de este compuesto derivado del carbonilo.

En la figura también se muestran dos de las posibles rutas de síntesis de estos compuestos. Ambas tienen en común la utilización de las mismas materias primas, que son el éster funcionalizado en 3 por la función acetálica, la diamina alifática o aromática y el 5-fluorouracilo, todos ellos comerciales. La denominada ruta A parte del éster, que se hace reaccionar con la diamina para obtener la diamida, una vez conseguida, esta se hace reaccionar por los extremos acetálicos con el 5-fluorouracilo para obtener los compuestos de condensación.

La ruta B contempla la posibilidad de invertir las secuencias de reacciones, haciendo primero reaccionar el éster con la base pirimidínica por el extremo acetálico y una vez obtenido el producto completar la síntesis mediante la formación de la diamida correspondiente para dar los productos finales.

Con respecto a esta última ruta sintética, pudimos comprobar que aunque el rendimiento del primer paso de la síntesis, es decir, la condensación del éster con el 5-fluorouracilo, es bastante bueno, el segundo paso de la reacción, la formación de la diamida, se obtuvo con muy mal rendimiento. Estos resultados posiblemente puedan ser explicados tanto por las características fisicoquímicas de los derivados del 5-FU, en concreto de la escasa solubilidad de estos compuestos, que puede condicionar su reactividad, así como a posibles influencias de tipo estérico en el momento de la formación de la diamida; factores ambos que hacen que el rendimiento total de la síntesis se vea bastante reducido, por lo que decidimos elegir la otra vía sintética, la ruta A, hecho que

no descarta que en un futuro la ruta B pueda ser retomada al objeto de estudiarla en profundidad y poder obtener resultados más favorables.

De esta forma hemos llevado a cabo la obtención de los compuestos mediante la vía A, ya que aunque los resultados parciales no son del todo excelentes, nos ha permitido obtener los productos finales con rendimientos bastante aceptables.

3.1.- Preparación y caracterización de las materias primas 19-24.

Antes de comenzar con la descripción de la síntesis y caracterización mediante técnicas espectroscópicas de estos compuestos conviene que adoptemos un sistema de numeración para todos ellos que, si bien no corresponde al sistemático, simplifica enormemente la localización de cada posición y cada sustituyente en dicha posición.

Esta numeración es peculiar y sólo válida para los compuestos descritos en la presente memoria. Está justificada solamente por la simetría de la molécula y consiste en comenzar asignando el número 1 a la posición central de la molécula para la serie alifática. Cuando no existe un sólo átomo (caso de derivados de etilendiamina o butilendiamina) se asignará el número 1 a los dos átomos equivalentes, a continuación siguen números correlativos en el sentido de cada extremo de la molécula de la diamida. Los dos radicales unidos a los nitrógenos se numerarán partiendo del carbonilo con números prima (').

Para la serie aromática se sigue el mismo criterio con la salvedad de que los átomos del anillo aromático se designan con letras en lugar de números, correspondiendo letras idénticas a las posiciones equivalentes.

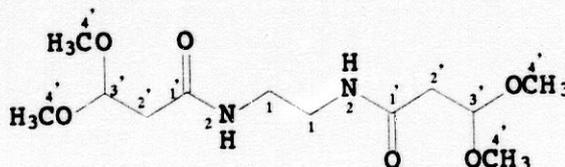
La identificación de todos los compuestos, se ha realizado tras su

purificación cromatográfica y constancia de su punto de fusión, siguiendo las técnicas espectroscópicas habituales de RMN (^1H y ^{13}C), IR y análisis elemental. En tres casos, además, hemos realizado el estudio de espectrometría de masas.

3.1.1.- Síntesis de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina 19.

Para la síntesis de diamidas, de entre los numerosos métodos mencionados en la revisión bibliográfica elegimos en un principio el propuesto por Phillips y Rae³⁴. De este modo hemos hecho reaccionar el 3,3-dimetoxipropanoato de metilo y la etilendiamina en metanol absoluto, agitando a temperatura ambiente.

La reacción fue seguida por cromatografía en capa fina y al cabo de 10 días se observó la desaparición de los productos de partida por lo que se dio por finalizada la reacción y a continuación tras la eliminación de parte del disolvente se recoge un sólido que se corresponde con el producto buscado 19.



19

Identificamos el producto mediante sus características espectroscópicas de resonancia de protones (espectro ^1H -RMN-1), de carbono (espectro ^{13}C -RMN-1), de infrarrojo (espectro IR-1) y espectrometría de masas (espectro EM-1).

Así en el espectro de ^1H -RMN (300.13 MHz) realizado en Cl_3CD , podemos observar las siguientes señales: 6.67 ppm (s, NH); 4.67 ppm (dd, $J=5.3$ Hz, asignable al los H_α acetálicos); 3.35 ppm (s, 12 H del los OCH_3 y s,4H de los H_β); 2.5 ppm (d, $J=5.3$ Hz, asignable al los H_β).

El espectro de ^{13}C -RMN (^{13}C -RMN-1)(75.78MHz, Cl_3CD) muestra las siguientes señales : 170 ppm asignable a los C_1 , la señal desaparece en el espectro DEPT; 102.15 ppm correspondiente a los C_α acetálicos; 54.12 ppm asignables al los C_β de los metilos; 40.87 ppm asignable a los C_α de los CH_2 ; 39.59 ppm asignable a los C_β de los CH_2 . Como se puede comprobar en la correlación de C-H (Corr. 1) la asignación de δ para los dos metilenos es la correcta, apareciendo los C_α a campos menores que los C_β .

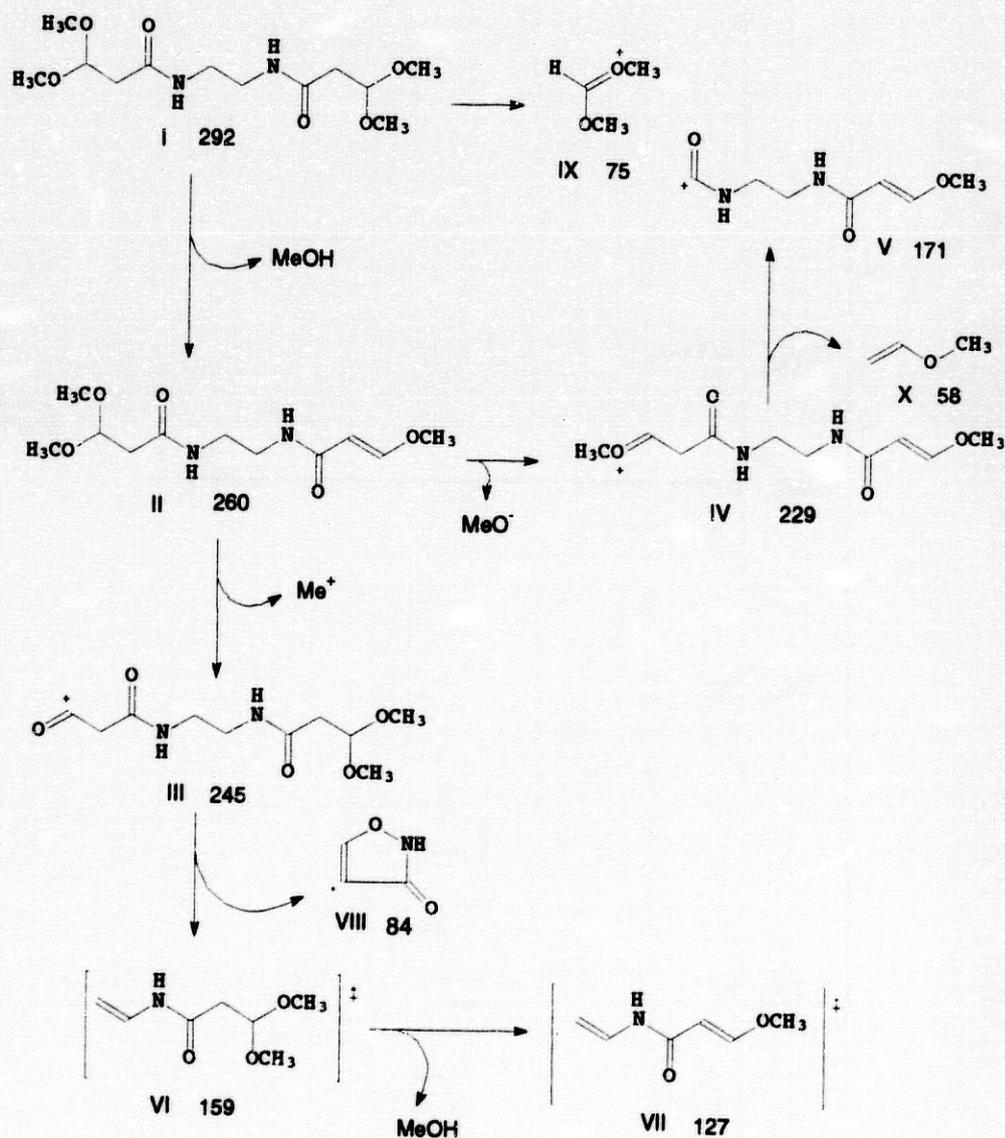
En el espectro de infrarrojo (IR-1) podemos identificar las siguientes señales ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): a 3300 (tensión N-H); a 2932 (tensión C-H); a 2836 (tensión H-C-O); a 1646 (tensión C=O); entre 1458 y 1378 aparecen las bandas características de CH_2 ; y a 1129 y 1063 (tensión C-O).

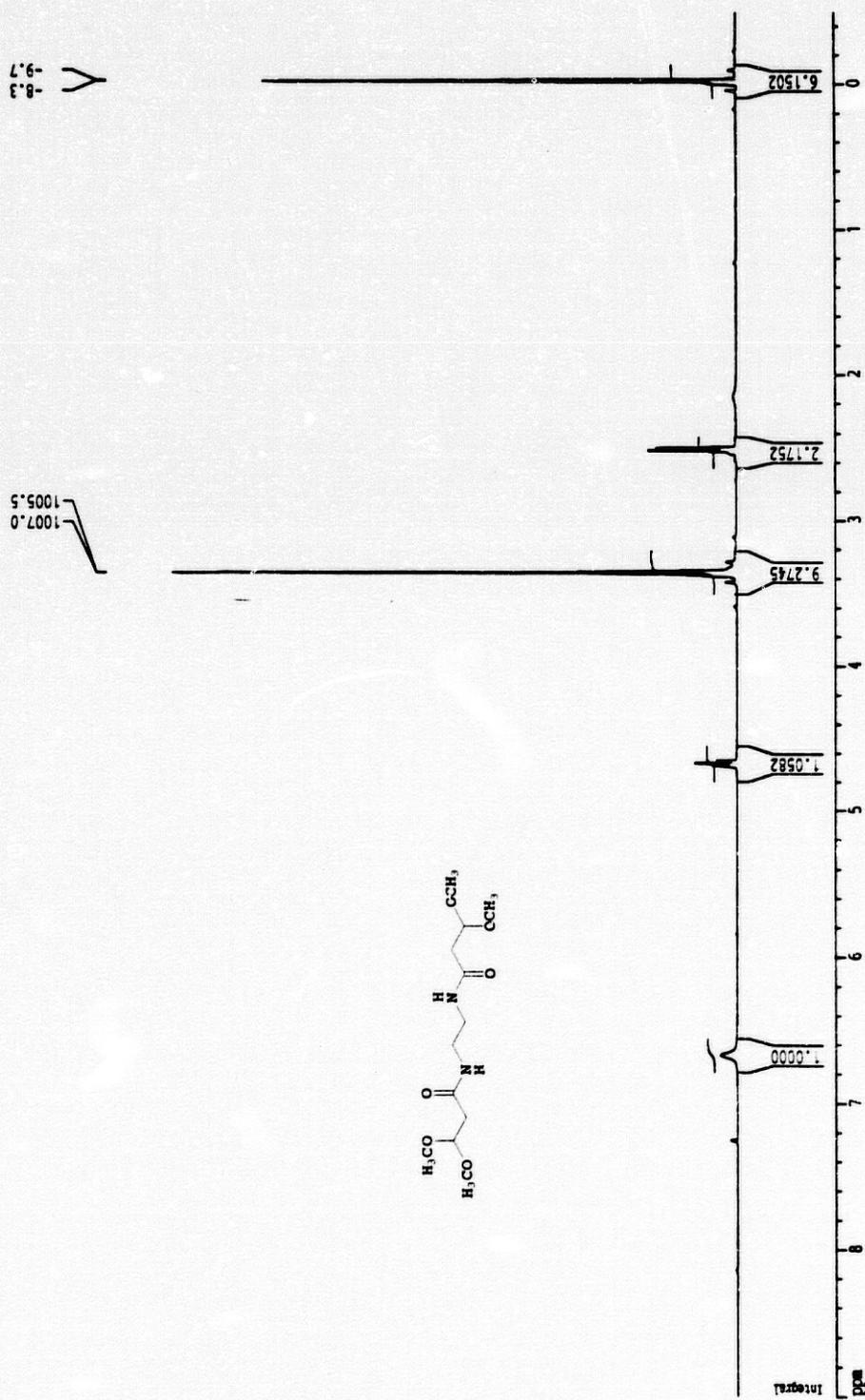
En la tabla I se recogen los fragmentos iónicos (m/e) junto con la abundancia relativa de cada uno de ellos, resultado del estudio de la espectrometría de masas.

FRAGMENTO	m/e	ABUNDANCIA RELATIVA (%)
I	292	
II	260	0.28
III	245	3.79
IV	229	8.18
V	171	10.70
VI	159	27.51
VII	127	23.66
VIII	86	6.51
IX	75	100
X	58	38.03

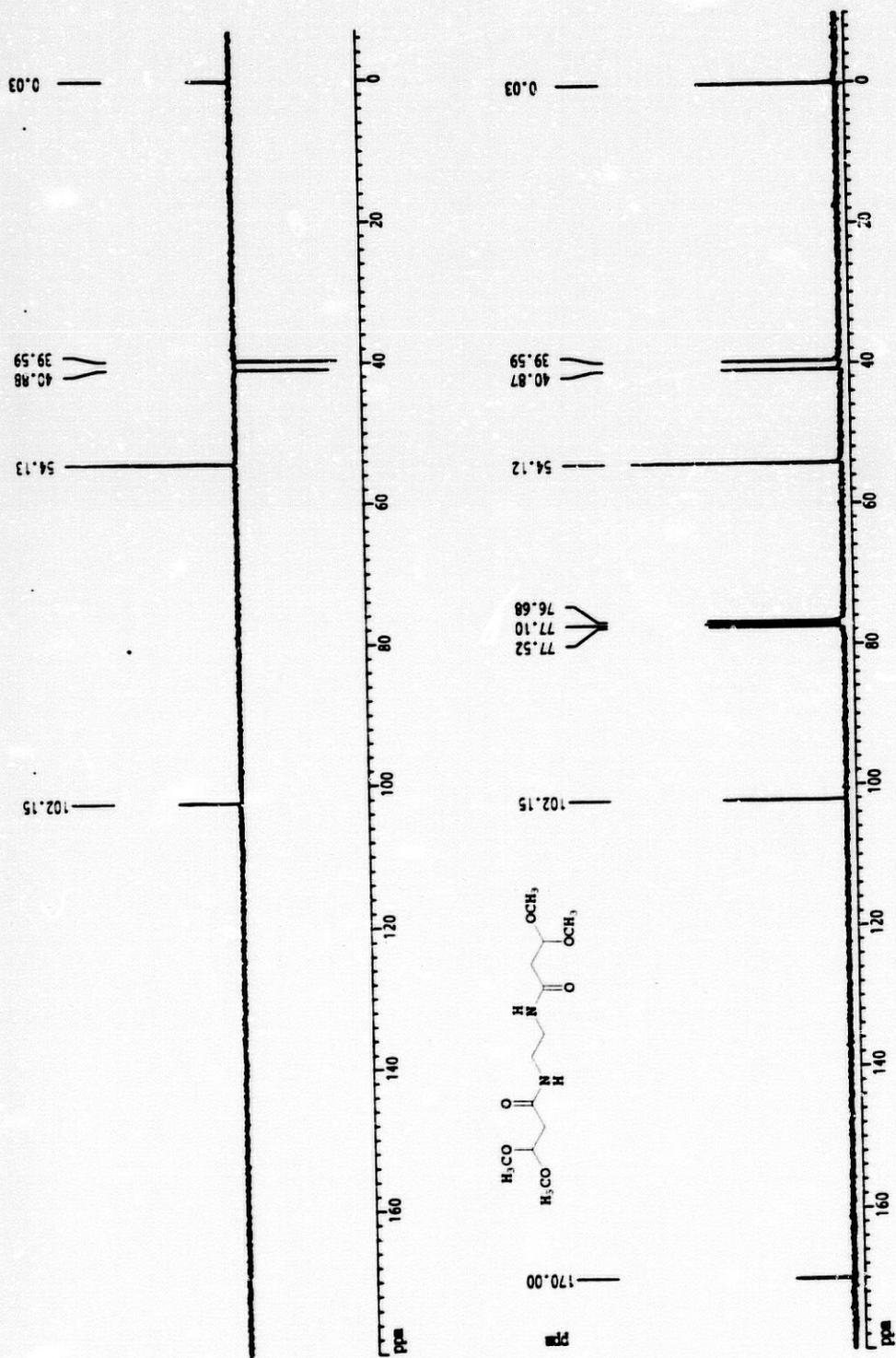
Tabla I

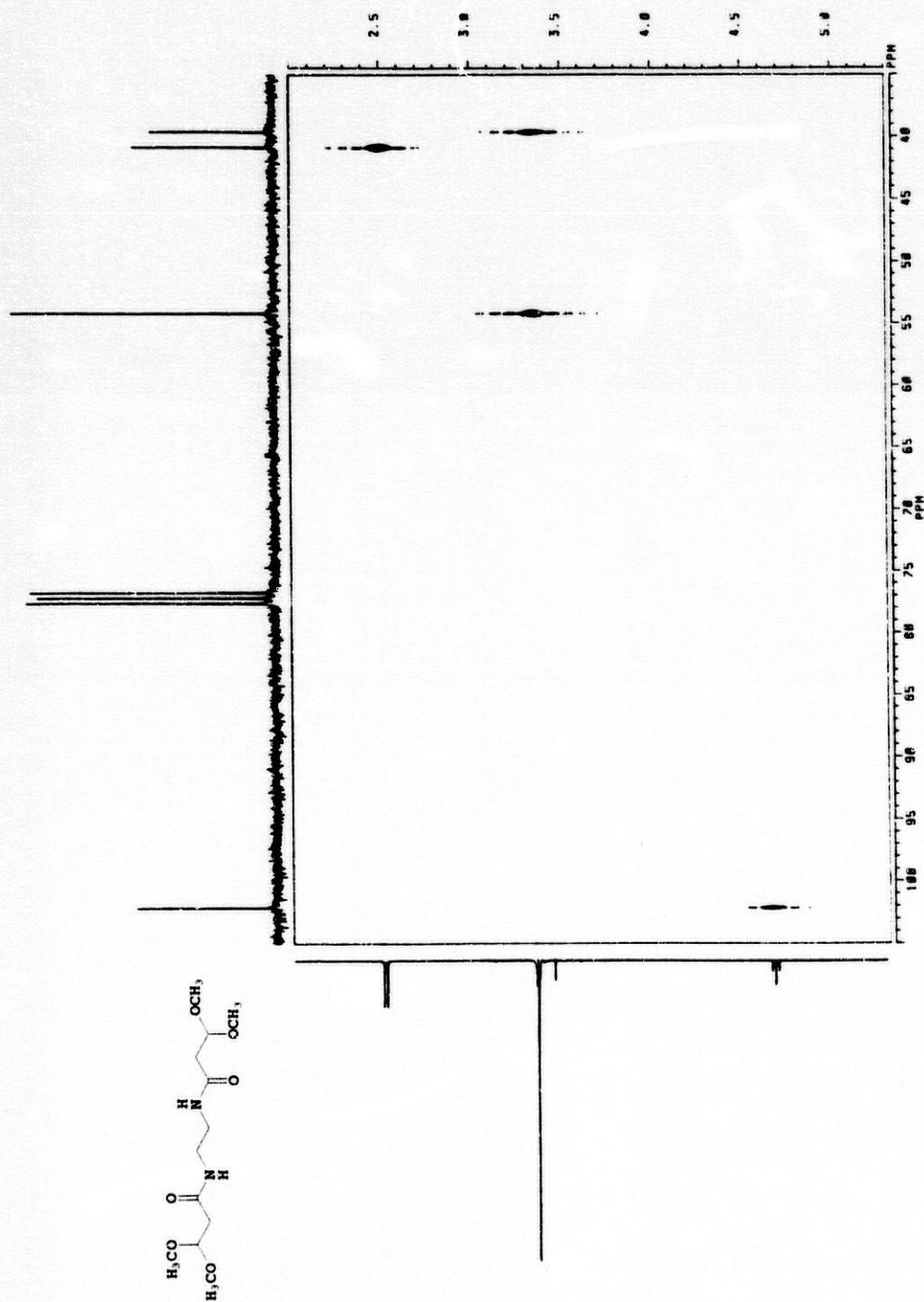
El esquema de las fragmentaciones más importantes deducido del espectro de masas (EM-1) es el siguiente.



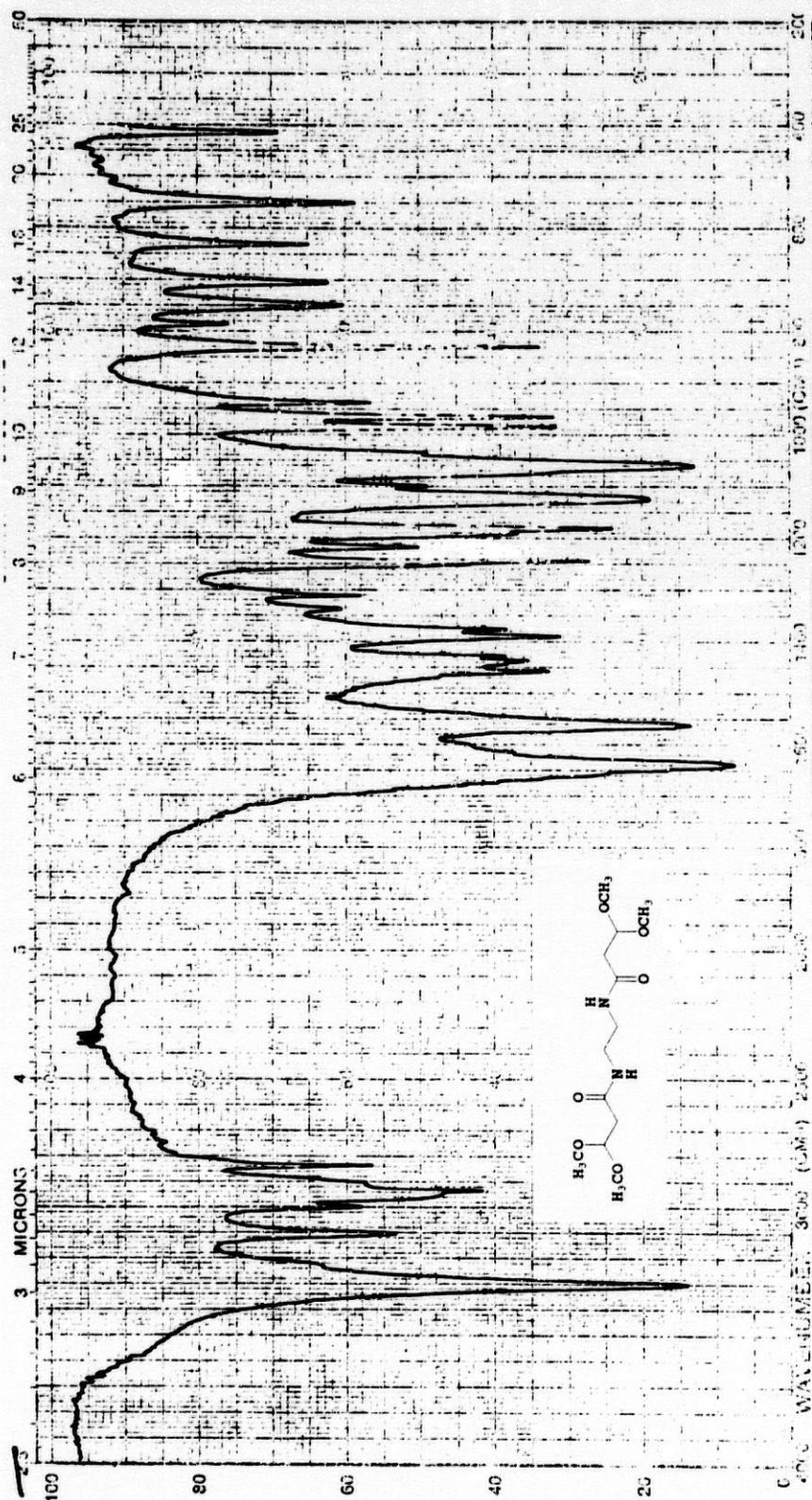


¹H-RMN-1.- N,N'-bis-(3,3-dimethoxypropanoyl)-etilendiamina **19**.

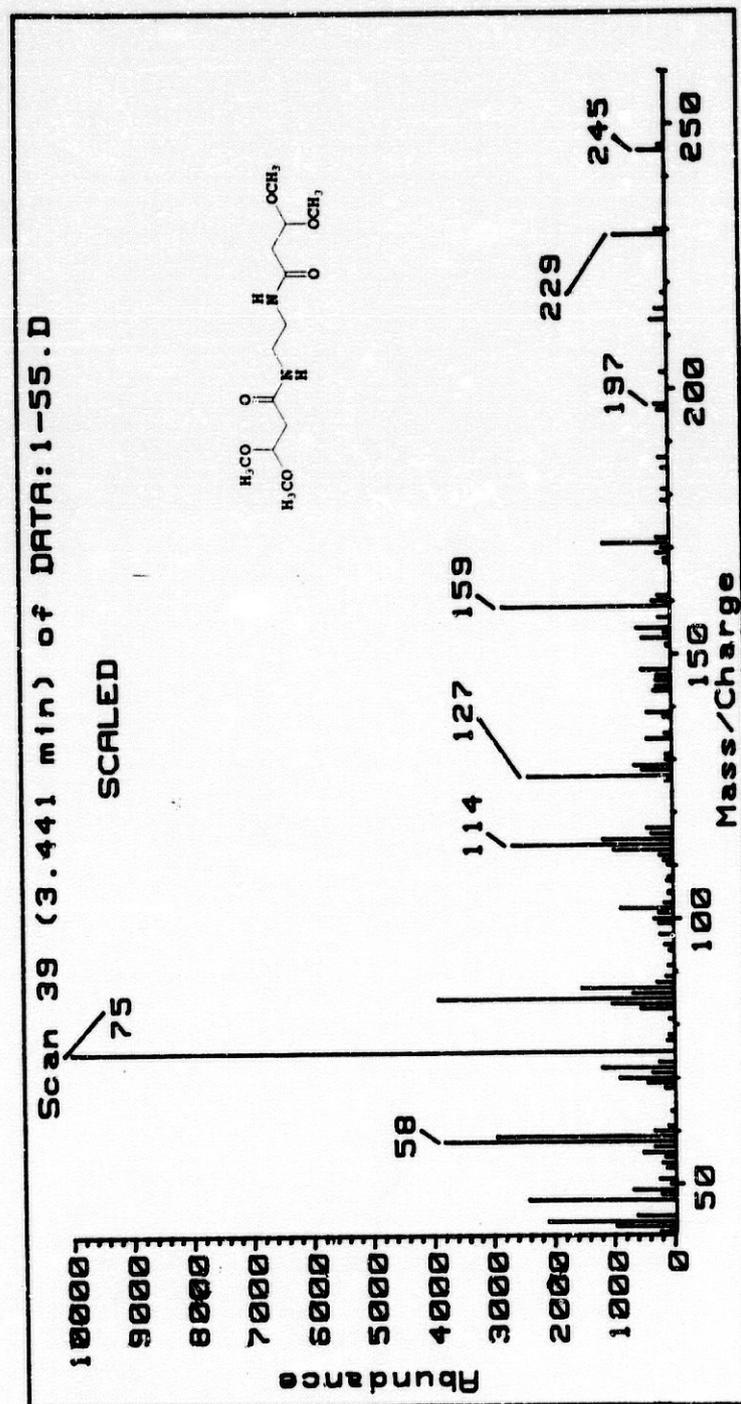




CORR-1.- *N,N'*-bis-(3,3-dimetoxipropionil)-etilendiamina **19**.



IR-1.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina 19.



EM-1.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina **19**.

Una vez obtenido el producto intentamos optimizar la reacción variando el tipo de disolvente, la temperatura y el tiempo de reacción.

EXPERIENCIA	TIEMPO	TEMPERATURA	DISOLVENTE	RENDIMIENTO (%)
I	10 días	Ambiente	Metanol	47
II	5 días	Ambiente	Etanol	34
III	4 días	70°C	Metanol	51
IV	12 días	Ambiente	Etanol	55

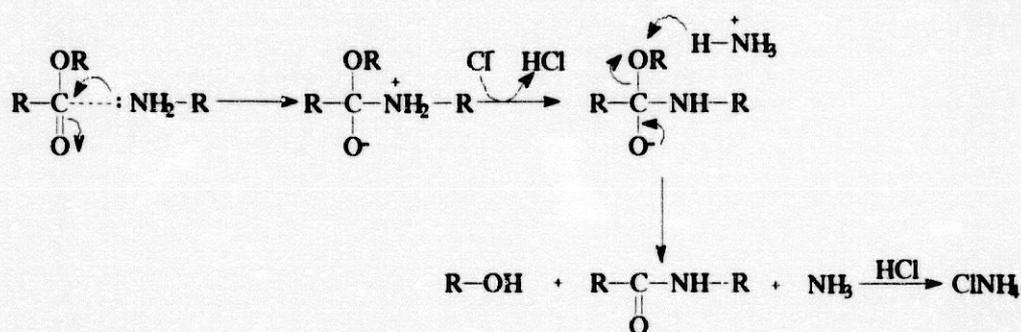
Así vemos que el disolvente no juega un papel importante en el rendimiento final, no así la temperatura, la cual acorta notablemente el tiempo de reacción.

Posteriormente, se hizo una nueva variación al introducir como catalizador de la reacción una pequeña cantidad de NH_4Cl y manteniendo la mezcla a reflujo sin disolvente durante 5 horas, basándonos en el método de formación de amidas descrito en el *Vogel's*⁶⁴.

Al aplicar este procedimiento, el rendimiento de la reacción es considerablemente inferior debido lo más probable a que, al tener que mantener una temperatura alta durante 5 h, la diamina alifática se descompone y en parte se evapora, con lo que no reacciona correctamente. La reacción mejora si la llevamos a cabo con disolvente porque permite no tener que elevar tanto la temperatura para mantener el reflujo.

No obstante, este método nos permite establecer un modelo general para explicar el mecanismo por el que se lleva a cabo la reacción.

Aunque no está totalmente claro, el proceso por el que se forman amidas a partir de ésteres carboxílicos en presencia de NH_4Cl , el mecanismo podría ser este:



También fue realizada una experiencia siguiendo el procedimiento de formación de péptidos con DCC y HOBT, los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, debido a que partíamos del éster en lugar del ácido carboxílico como propone dicha síntesis¹⁶. La posibilidad de realizar una hidrólisis previa del éster fue descartada ya que, aunque dicha hidrólisis se llevó a cabo con éxito, este proceso suponía la introducción de un paso adicional en la secuencia de síntesis, lo que a posteriori no reportaba beneficio sobre el método anterior.

Así mismo se realizó un nuevo intento de obtención, siguiendo el método descrito por Basha³³, pero al tratarse de la formación de una diamida el rendimiento no superó al obtenido con el procedimiento de Phillips³⁴.

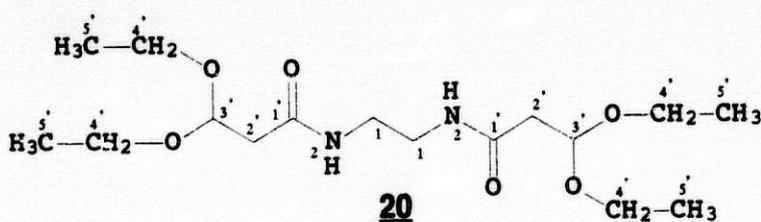
3.1.2.- Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)-etilendiamina 20.

Una posible variación era la de cambiar el producto de partida empleando el 3,3-dietoxipropanoato de etilo. La razón de este cambio estriba en poder

disponer de resto etoxi en vez del metoxi para provocar el intercambio por el 5-FU al obtener los productos finales.

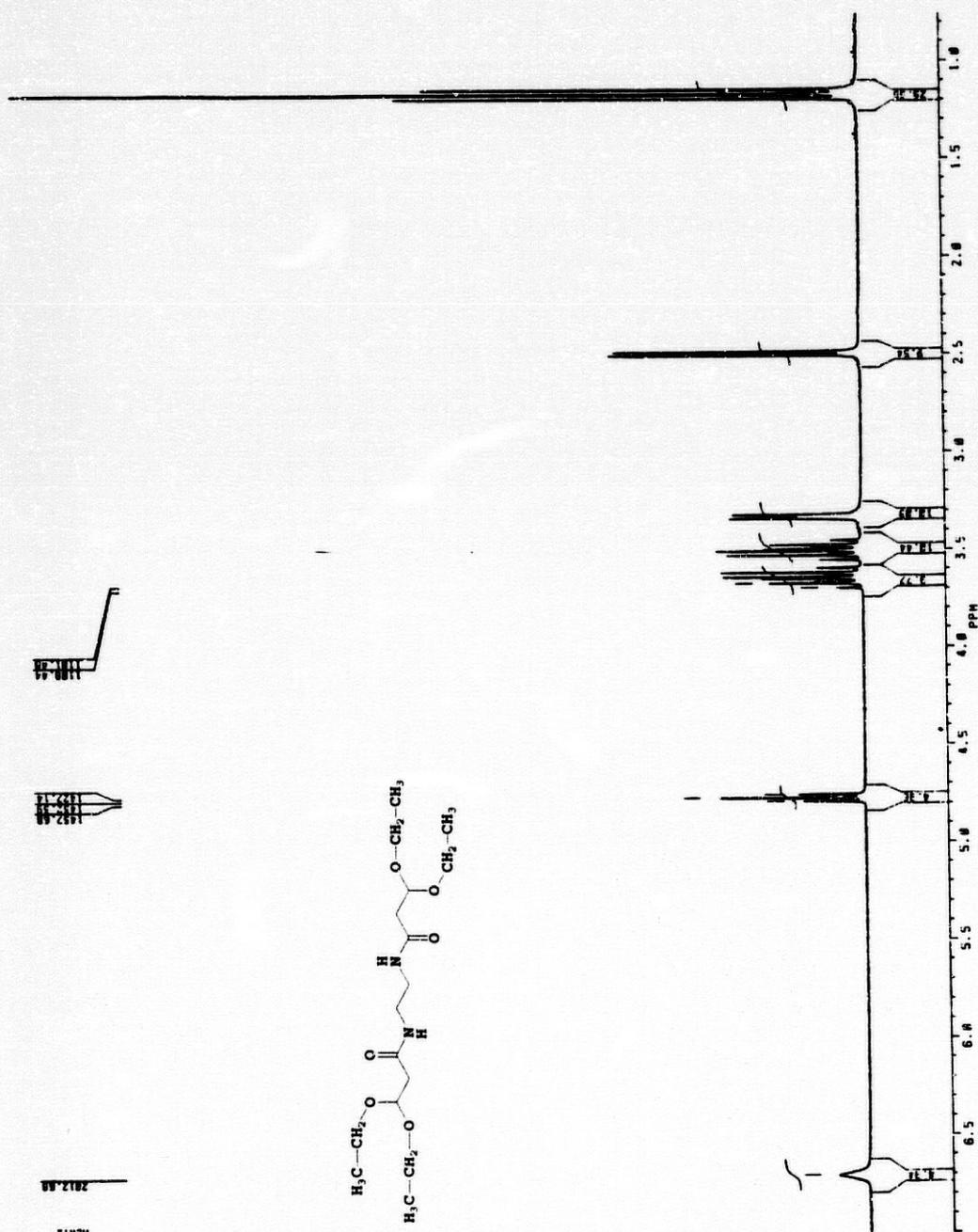
La síntesis de este compuesto se llevó a cabo por agitación del éster con la etilendiamina en etanol absoluto, una vez a temperatura ambiente durante 11 días y otra calentando a 70°C durante 3 días. En ambos casos los rendimientos fueron bastante bajos, un 11% y un 7% respectivamente.

No obstante, el producto obtenido se identificó por espectroscopía de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-2}$), de carbonos ($^{13}\text{C-RMN-2}$) y de infrarrojos.



El espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-2}$)(300.13MHz, Cl_3CD) corresponde con la estructura propuesta pudiendo identificar como señales características las de los H_4 , donde podemos observar que cada protón es diferente, apareciendo una señal a 3.64 ppm y la otra a 3.49 ppm, ambas como doble cuadruplete, debido al acoplamiento con los 3 protones del CH_3 (C_5)($J_{4,5}=7.05$ Hz) y el desdoblamiento de cada uno por el acoplamiento geminal ($J_{\text{gem}}=9.37$ Hz). En 3.32 ppm (t) vemos la señal de los H_1 ($J=2.5$ Hz); finalmente a 1.16 ppm (dd) se encuentra la señal de los CH_3 acoplada con los H_5 ($J_{5,4}=7.05$ Hz); como cabe esperar desaparece la señal del metoxilo presente en el espectro anterior. El resto del espectro es idéntico y se corresponden con las señales anteriormente asignadas.

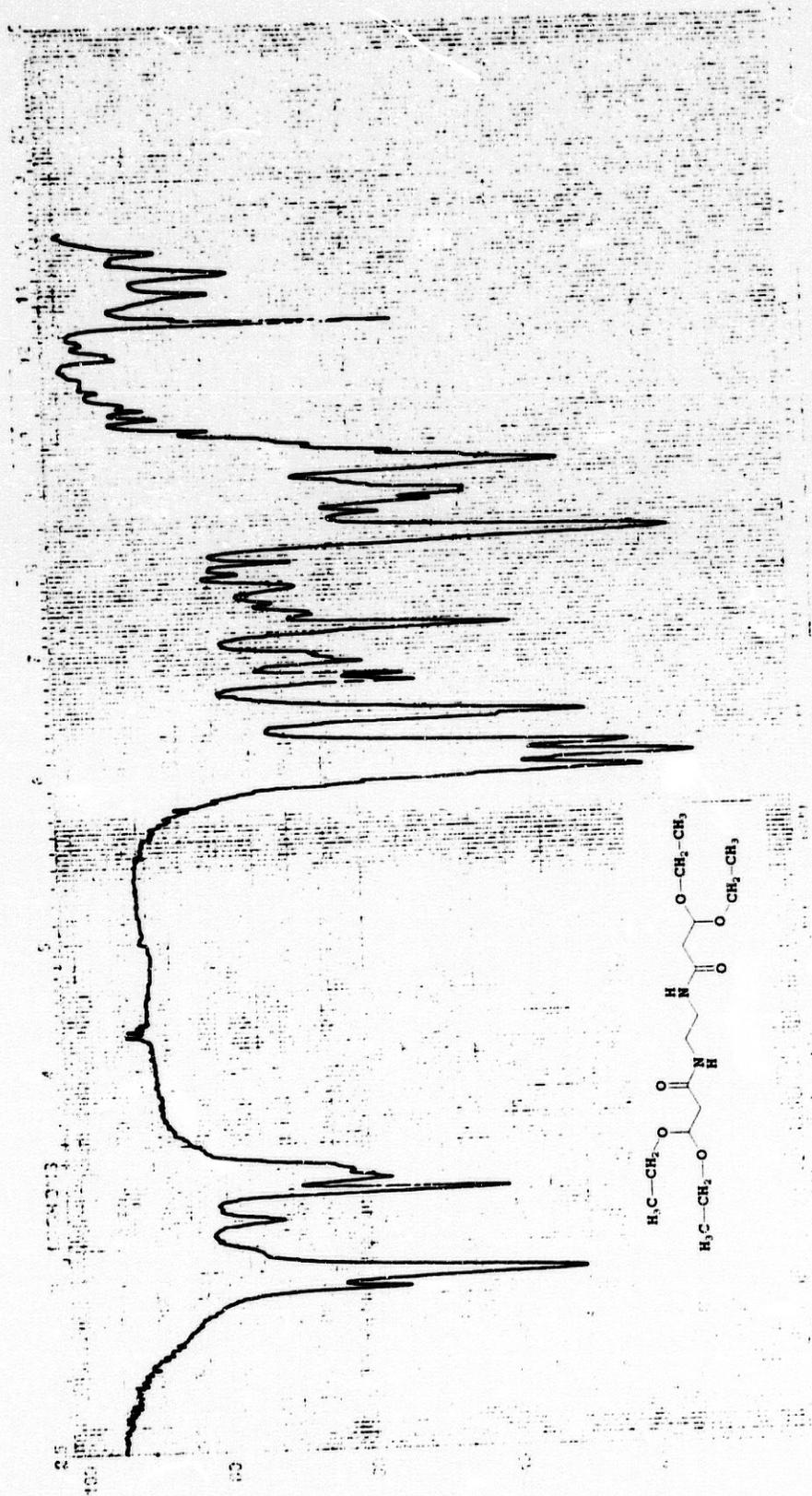
El espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-2}$)(75.78 MHz, Cl_3CD) es más sencillo de interpretar y similar en todo al anterior salvo en la señal de los C_4 , que



¹H-RMN-2.- N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)-etilendiamina **20**.



¹³C-RMN-2.- N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)-etilendiamina **20**.



IR-2.- N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)-etilendiamina 20.

aparece a 15.26 ppm y la señal de los metilos (C_5) que, al no formar parte del metoxilo, aparece más apantallada, a 62.58 ppm.

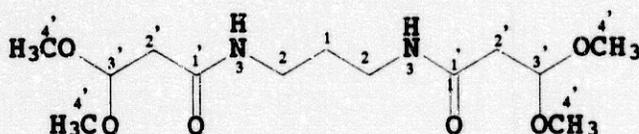
En el espectro de infrarrojos (IR-2) podemos observar las siguientes bandas ($\bar{\nu}$ cm^{-1}): a 3301 tensión de N-H, a 2976 tensión de C-H, a 1641 banda del carbonilo, a 1556 banda de flexión de N-H, a 1380 banda de CH_2 , a 1199 y 1064 banda de éteres.

En un principio se pensó que el grupo etoxilo era más idóneo para la posterior condensación con 5-fluorouracilo, pero debido a la diferencia de rendimiento en la reacción comparado con su homólogo inferior, el derivado metilado, se decidió abandonar este tipo de intermedios, centrándonos únicamente en los derivados metílicos.

3.1.3.- Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,3-propanodiamina 21.

En la síntesis tanto de este derivado como del siguiente se ensayaron dos modificaciones diferentes. Una fue manteniendo la reacción a reflujo sin disolvente y con NH_4Cl durante 3 horas, con lo que el rendimiento fue de apenas un 12%; la otra modificación consiste en realizar también la reacción con NH_4Cl durante 8 días pero utilizando esta vez metanol como disolvente y manteniéndola a reflujo; en estas condiciones se consiguió superar el rendimiento situándolo en un 25 %.

El producto obtenido se identificó por sus propiedades espectroscópicas de resonancia de protones (1H -RMN-3), resonancia de carbono (^{13}C -RMN-3) y de infrarrojo (IR-3).

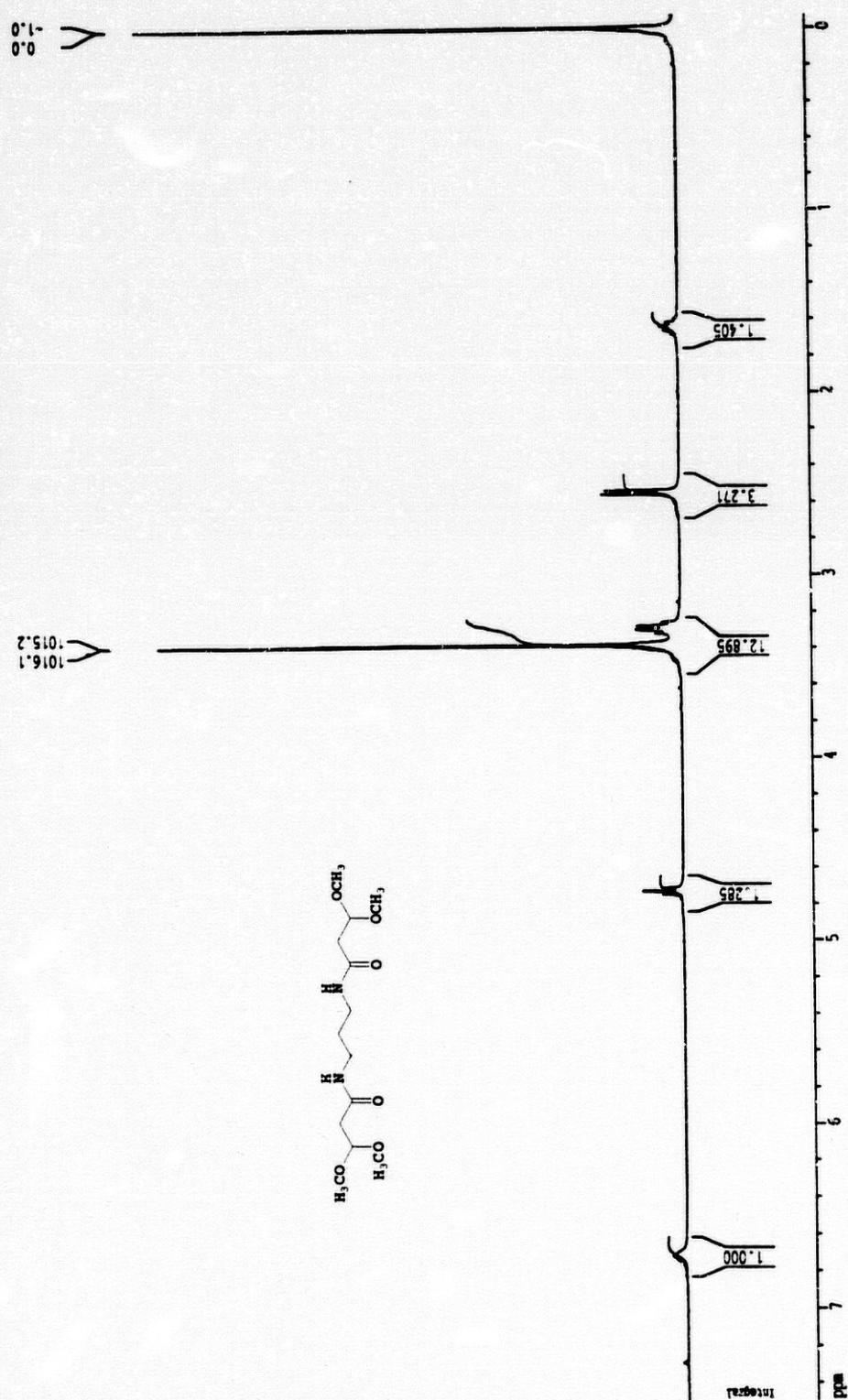


21

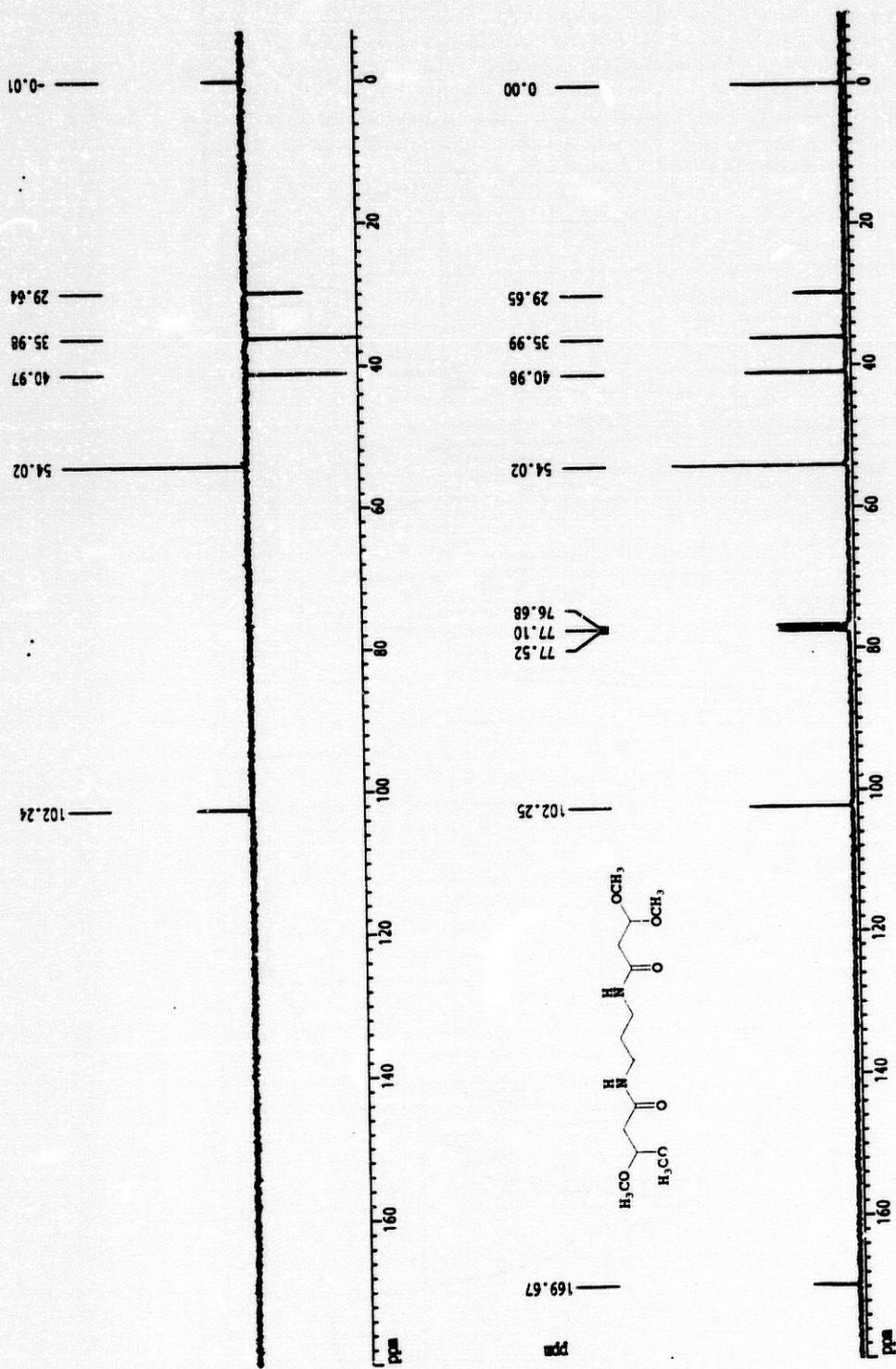
En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-3}$)(300.13 MHz, Cl_3CD) reconocemos como rasgo distintivo las señales del fragmento propílico central, así vemos que a 3.28 ppm aparece la señal de los H_2 como doble triplete, acoplados con los H_3 y con los H_1 adyacentes ($J_{2,1}=6.0$ Hz) y a 1.63 ppm vemos la señal de los H_1 como quintuplete al estar acoplados con 4 H de los dos metilenos con una $J_{1,2}=6.0$ Hz.

El espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-3}$)(75.78 MHz, Cl_3CD) confirma también la estructura propuesta, apareciendo ahora a 29.65 ppm la señal del metileno central que diferencia esta estructura de las anteriores.

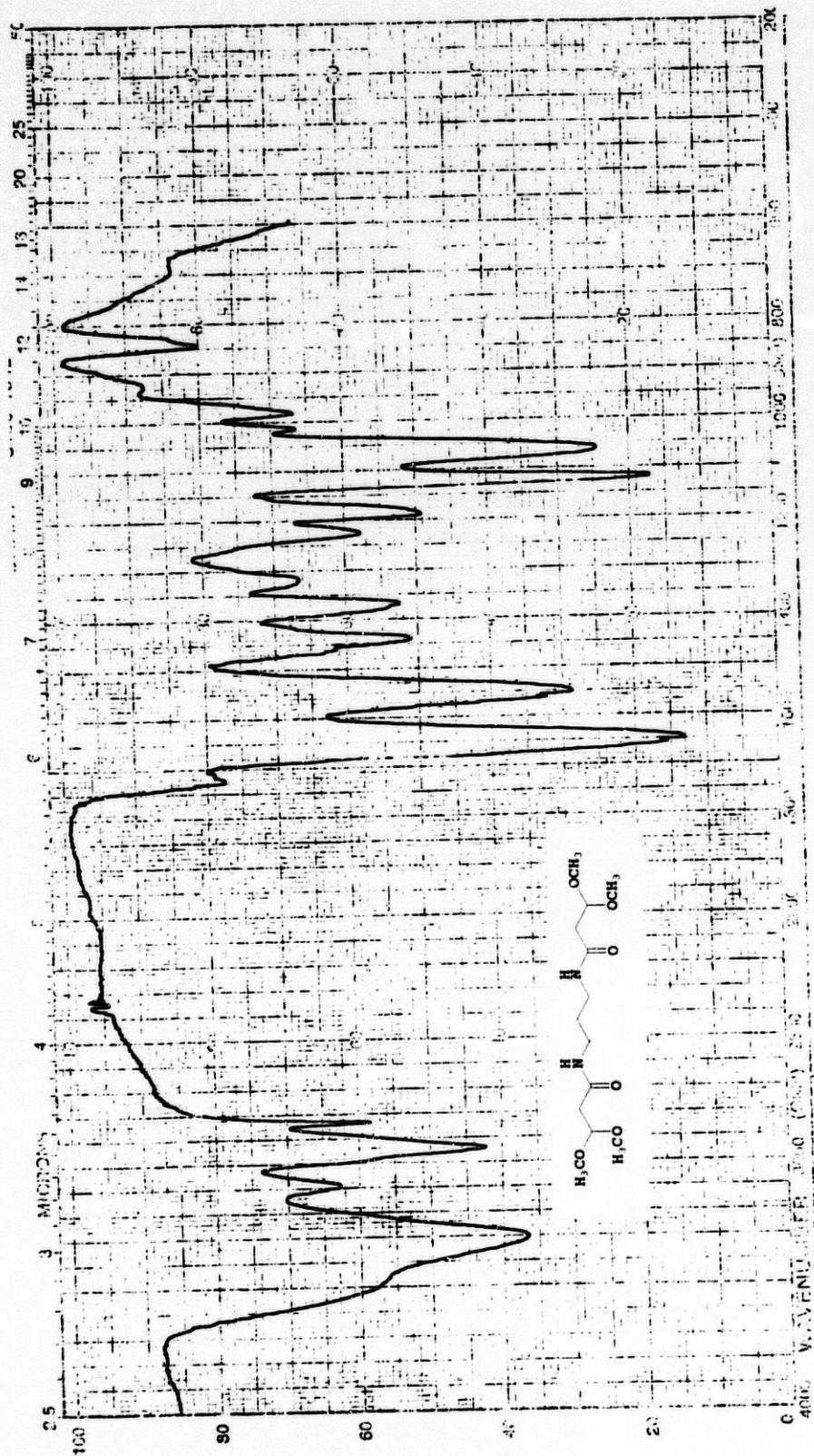
En el espectro de IR (IR-3) vemos una serie de bandas características de los grupos funcionales de la molécula como son ($\bar{\nu}$ cm^{-1}): A 3308 aparece la banda de tensión del N-H; a 2944 aparece la banda de tensión de C-H; junto a esta aparece una banda débil a 2838 característica de grupos $\text{CH}_3\text{-O-}$; a 1652 la banda correspondiente al carbonilo de la amida; a 1554 se encuentra la banda de flexión del N-H; a 1444 y 1373 aparecen dos señales características de grupos metileno y a 1121 y 1064 se encuentran las señales características de tensión de asociaciones tipo éter, en nuestro caso correspondientes al acetal.



¹H-RMN-3.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxiproparil)-1,3-propanodiamina **21**.



¹³C-RMN-3.- N,N'-bis-(3,3-dimethoxypropionil)-1,3-propanodiamina 21.

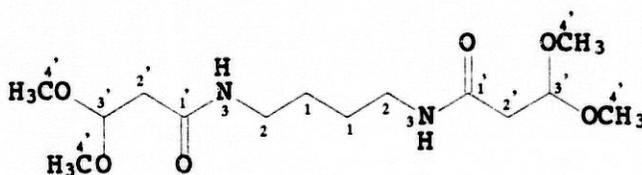


IR-3.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,3-propanodiamina 21.

3.1.4.- Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-butanodiamina **22**.

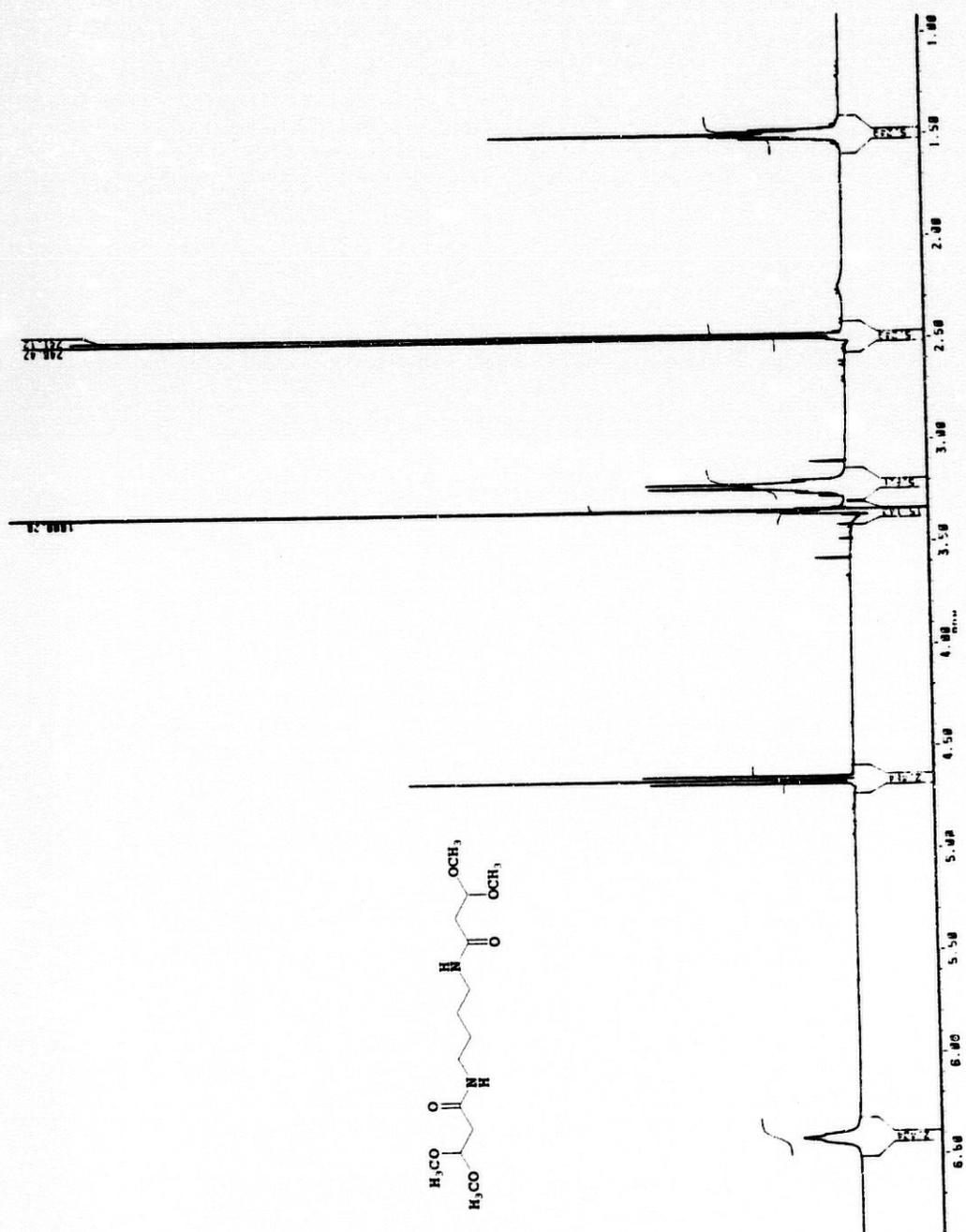
Al igual que en el producto anterior llevamos a cabo la reacción en dos condiciones diferentes, con y sin disolvente obteniéndose, en ambos casos, rendimientos dispares. En el caso de realizar la reacción sólo calentando con NH_4Cl sin disolvente el rendimiento era del 19 % y realizando la reacción con metanol el rendimiento se mejoró hasta un 33%.

El producto se identificó por espectroscopia de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-4}$), de carbono ($^{13}\text{C-RMN-4}$) e infrarrojo (IR-4).

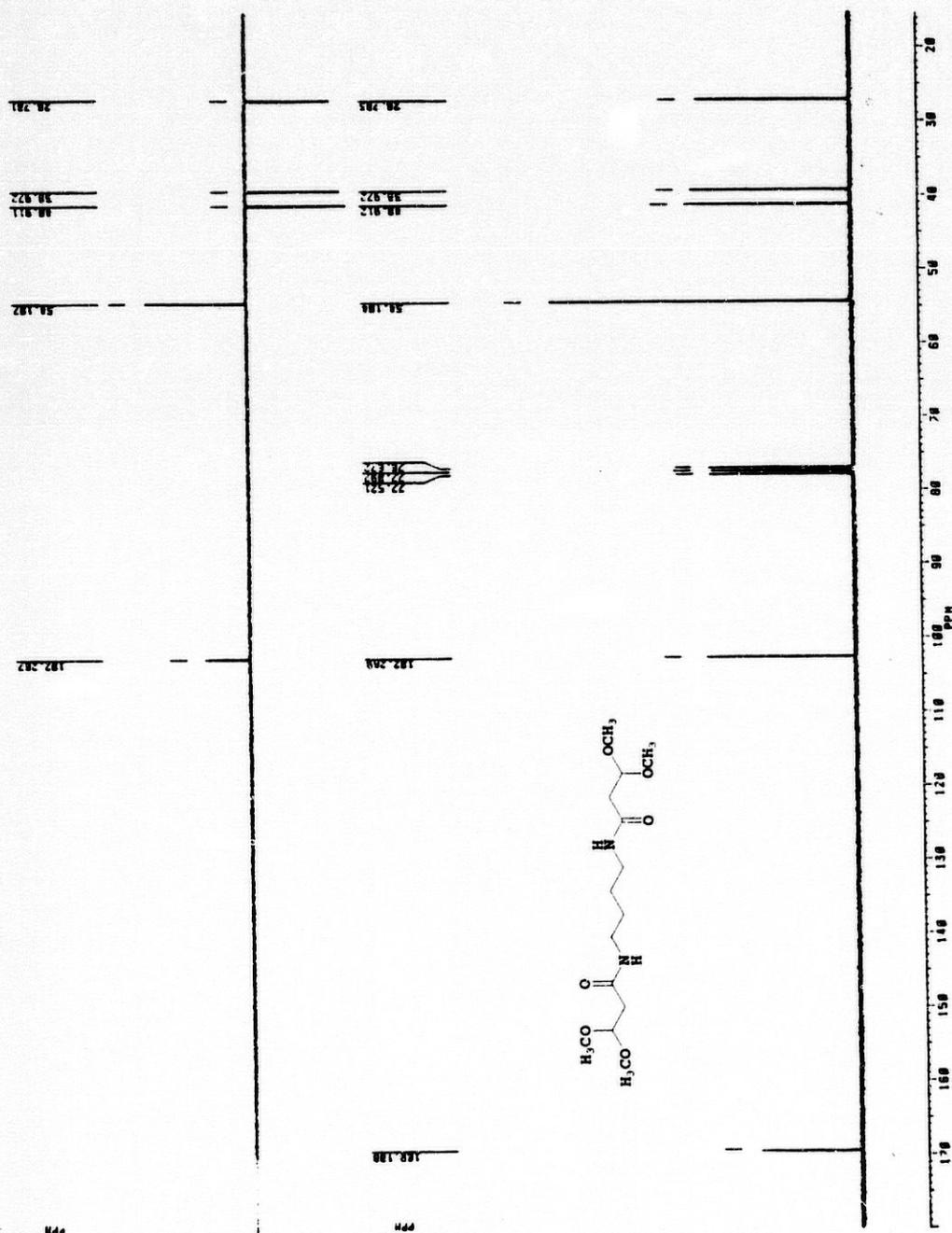


22

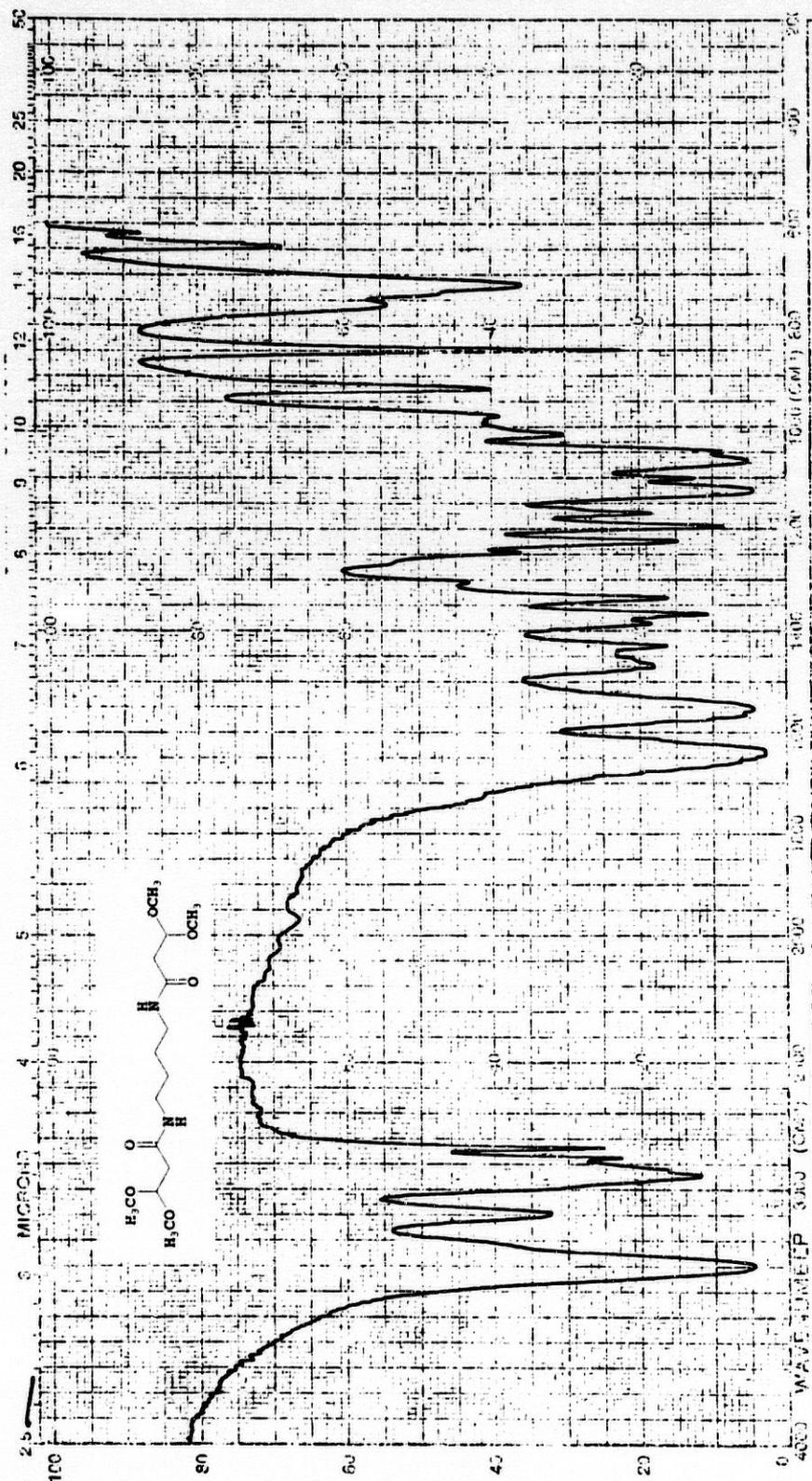
El espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-4}$)(300.13 MHz, Cl_2CD) es muy similar al de **21** apareciendo las mismas señales pero la señal a 3.21 ppm correspondiente a los H_2 aparece como un sistema más complejo pudiendo pensar en una doble señal para cada protón que aparecería como doble doblete pero que no está bien resuelto en este espectro y que por tanto nos impide su estudio en profundidad. A 1.48 ppm encontramos la señal de los H_1 acoplados con los H_2 ($J_{2,1}=3.2$ Hz).



¹H-RMN-4.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropionil)-1,4-butanodiamina 22.



¹³C-RMN-4. - N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-butanodiamina **22**.



IR-4.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-butanodiamina **22**.

En el espectro de ^{13}C -RMN (^{13}C -RMN-4)(75.78 MHz, Cl_3CD) las únicas diferencias apreciables con el de **21** son los desplazamientos del pico de los C_2 que aparece a 38.97 ppm y el de los C_1 que aparece a 26.78 ppm, además la intensidad de este último pico es mayor debido a que la molécula presenta dos metilenos en lugar de uno.

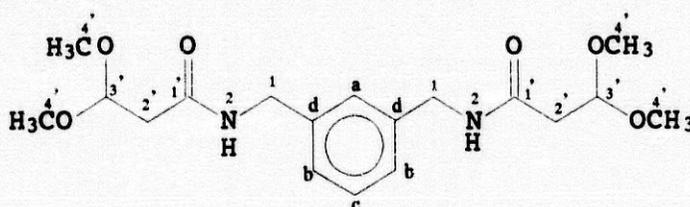
En el espectro de IR (IR-4) podemos reconocer las siguientes bandas de absorción ($\bar{\nu} \text{ cm}^{-1}$): A 3299 está la banda de tensión del N-H; a 2942 vemos la banda de tensión del C-H; junto a ella a 2834, con menor intensidad la banda característica del metoxilo; a 1642 encontramos la señal del carbonilo de la amida; junto a ella y de igual intensidad, a 1565, la banda de flexión del N-H; entre 1469 y 1336 encontramos una serie de señales correspondientes a los grupos CH_2 ; a 1125 y 1068 encontramos las señales propias de los éteres del acetal.

3.1.5.- Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminometaxileno **23.**

Seguimos el procedimiento general de síntesis manteniendo la mezcla a reflujo sin catalizador en metanol durante 10 días, obteniendo un rendimiento del 45%; realizando la reacción con NH_4Cl sin disolvente a reflujo se obtuvo en tan sólo una hora de reacción un rendimiento del 36%; este resultado contrasta con los obtenidos para las diamidas alifáticas y es posible explicarlo en base al hecho de que, al tener las diaminas aromáticas un mayor punto de ebullición, es menos probable la evaporación y descomposición de estas y por tanto una mejor reactividad.

En una experiencia posterior en estas mismas condiciones, es decir, sin disolvente y con NH_4Cl , manteniendo la mezcla a reflujo durante 3 horas conseguimos alcanzar un rendimiento del 53.7%

El producto se identifica por sus propiedades espectroscópicas de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-5}$), de carbono ($^{13}\text{C-RMN-5}$), infrarrojos (IR-5) y espectrometría de masas (EM-2).



23

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-5}$)(300.13 MHz, Cl_3CD) las señales más interesantes son las del sistema aromático y las de los protones bencílico; a 7.27 ppm encontramos la señal del protón aromático H_c acoplado con los H_b ($J=7.2$ Hz); a 7.15 ppm encontramos la señal de los otros tres H aromáticos, señal que podemos analizar por una parte como un pico a 7.15 ppm como doblete correspondiente a los dos H_b acoplados con el H_c ($J=7.1$ Hz), y por otra parte otra señal a 7.14 ppm que se corresponde con un único protón H_a y que por tanto aparece como singlete; a 4.38 (d) están los H_1 bencílicos que presentan acoplamiento con los H_2 ($J_{1,2}=5.8$ Hz).

En el espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-5}$)(75.78 MHz, Cl_3CD) podemos observar a su vez la señal de los C_d que aparece a 138.85 ppm, la señal desaparece en el espectro DEPT; la señal del C_c a 128.92 ppm y a 126.62 ppm la señal del C_a y a 126.43 ppm la de los C_b ; la señal de los C bencílicos C_1 aparece a 43.20 ppm. El resto de señales es coincidente con las de los anteriores espectros.

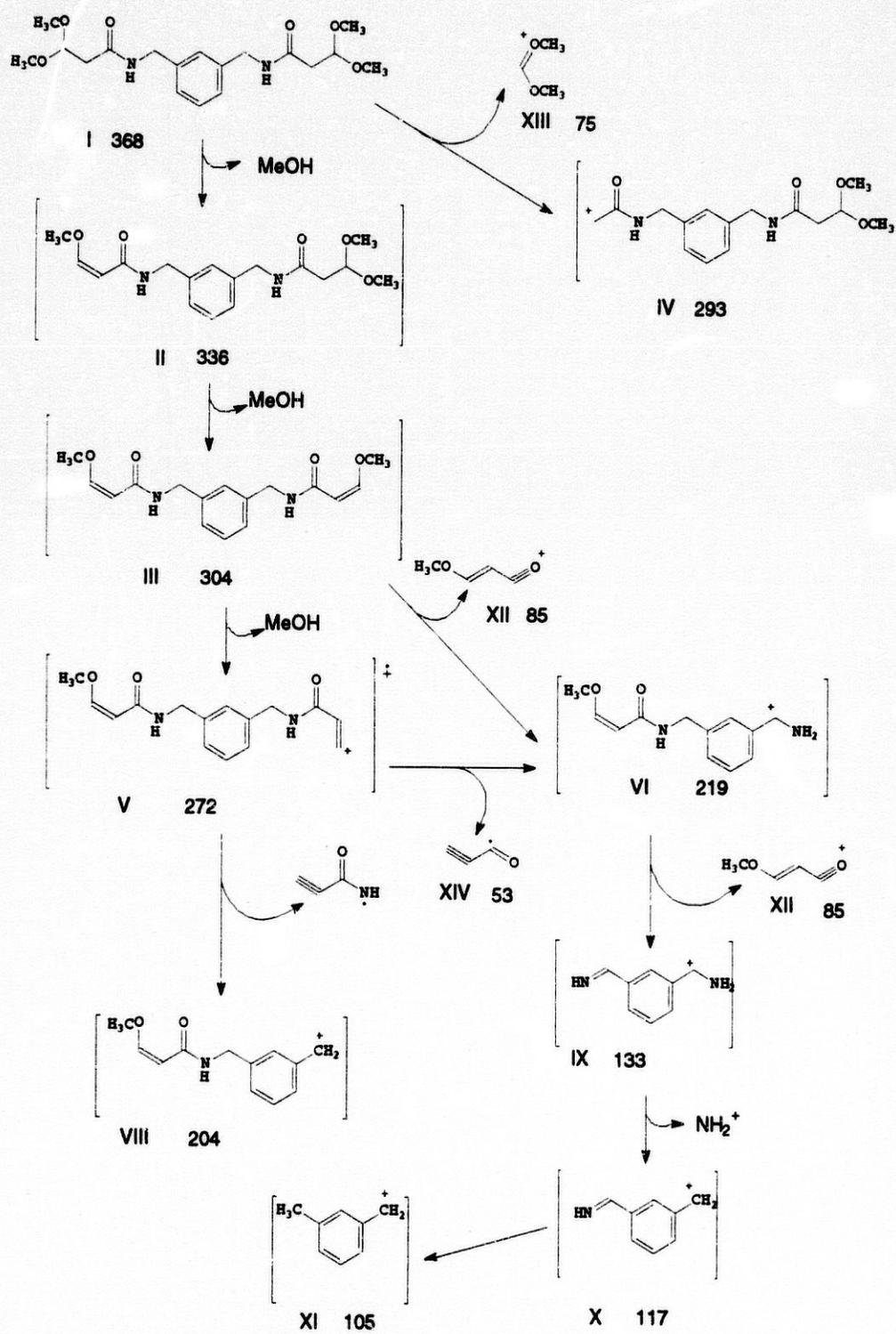
Confirma la estructura el espectro de IR (IR-5) donde encontramos ($\bar{\nu}$ cm^{-1}): a 3303 la señal de tensión del N-H; a 2936 señal de tensión del C-H; a 2836 señal característica del metoxilo; a 1647 la de tensión del carbonilo

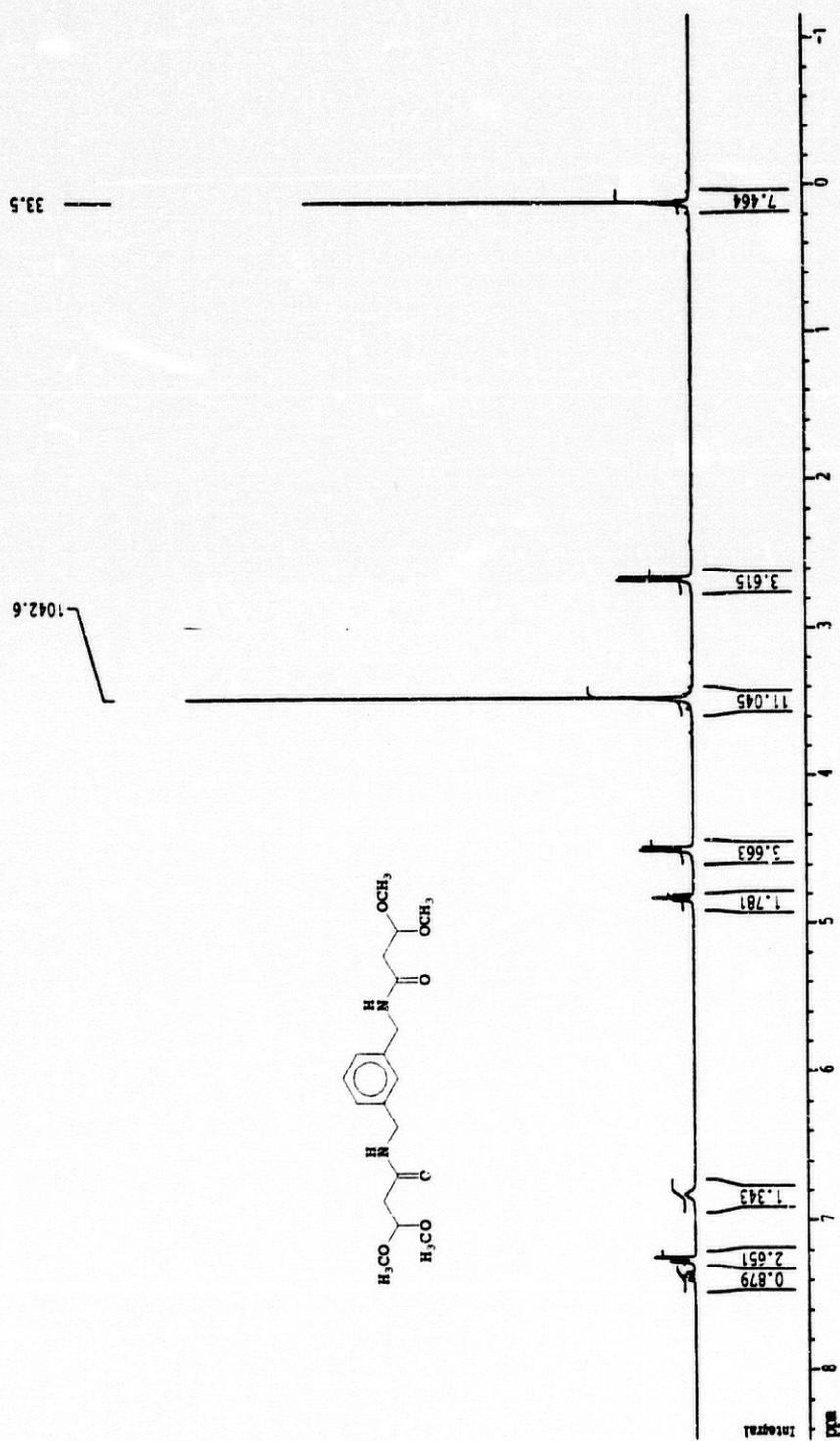
amídico; a 1558 la de flexión del N-H; entre 1437 y 1379 bandas propias de grupos tipo metileno; a 1124 y 1061 bandas correspondientes a los éteres del acetal y a 831, 793 y 767 bandas características de compuestos aromáticos disustituidos en la posición meta.

En el espectro de masas (EM-2) aparece una serie de valores para la relación carga masa de los que detallamos en la tabla II los más representativos y según los cuales podemos presentar el siguiente esquema con las posibles fragmentaciones de la molécula y que confirman la estructura propuesta.

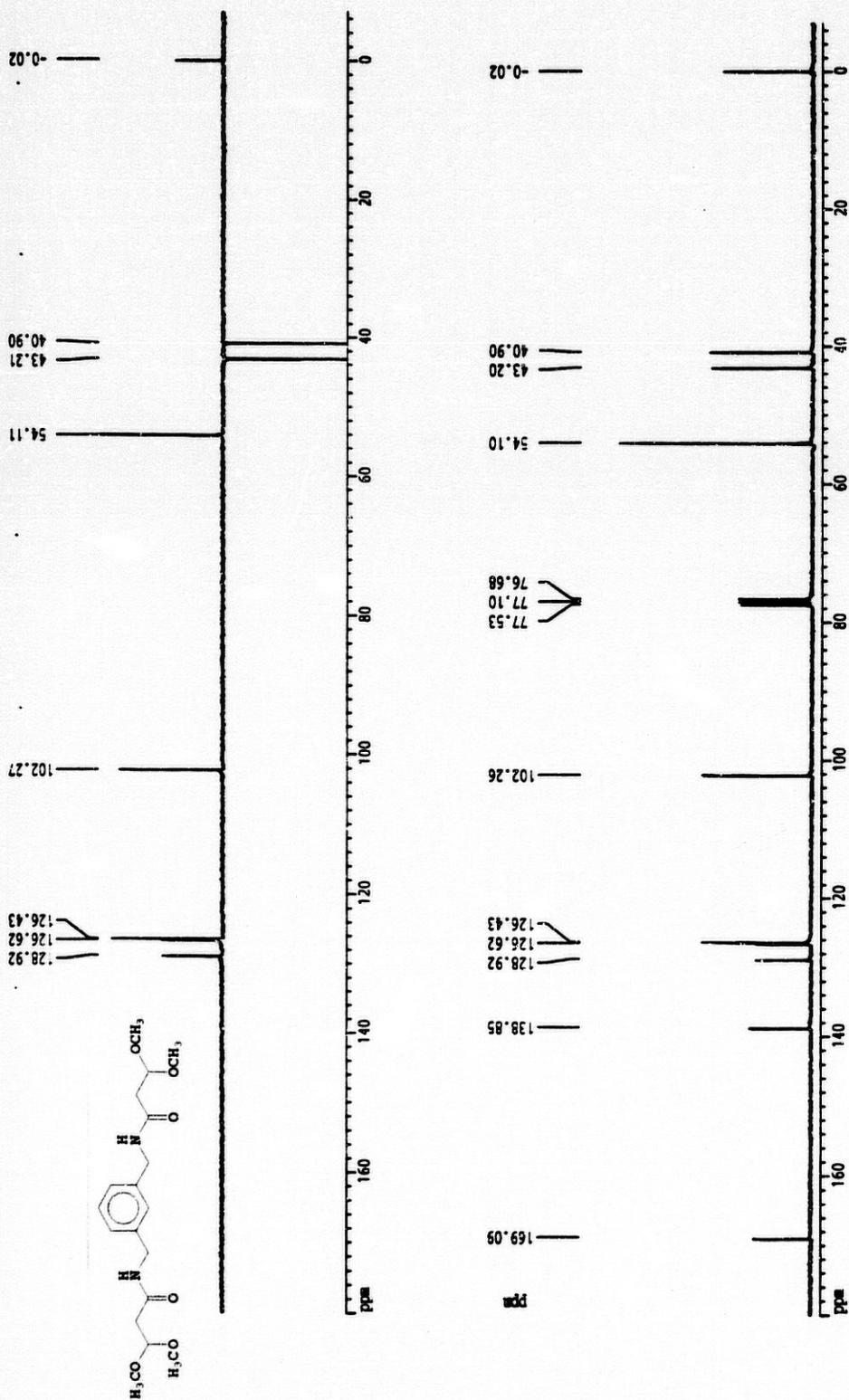
FRAGMENTO	m/e	ABUNDANCIA RELATIVA %
I	368	
II	336	1.01
III	304	58.08
IV	293	
V	272	14.95
VI	219	24.29
VII	218	3.68
VIII	204	11.19
IX	133	12.91
X	117	11.39
XI	105	24.26
XII	85	24.62
XIII	75	100
XIV	53	

Tabla II

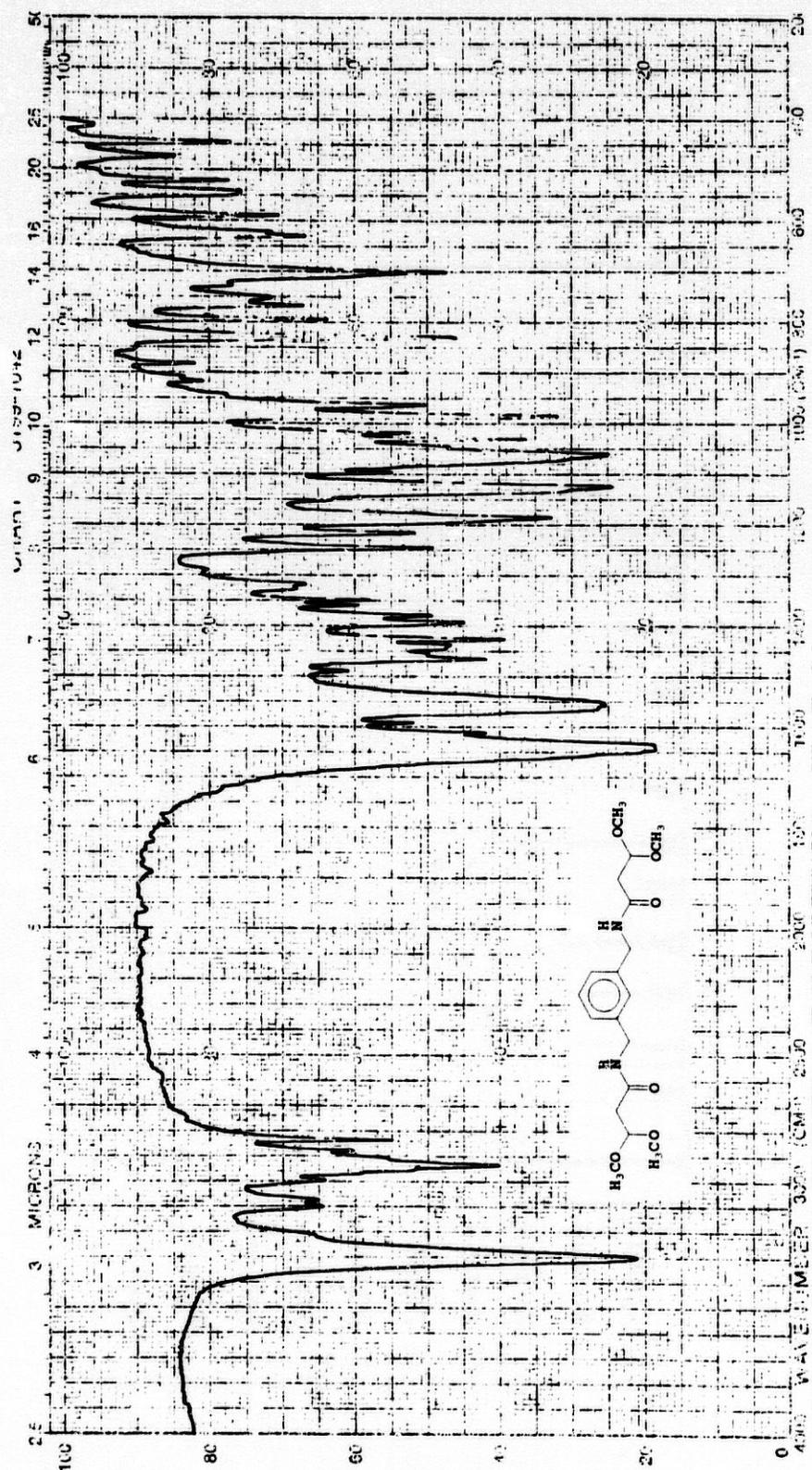




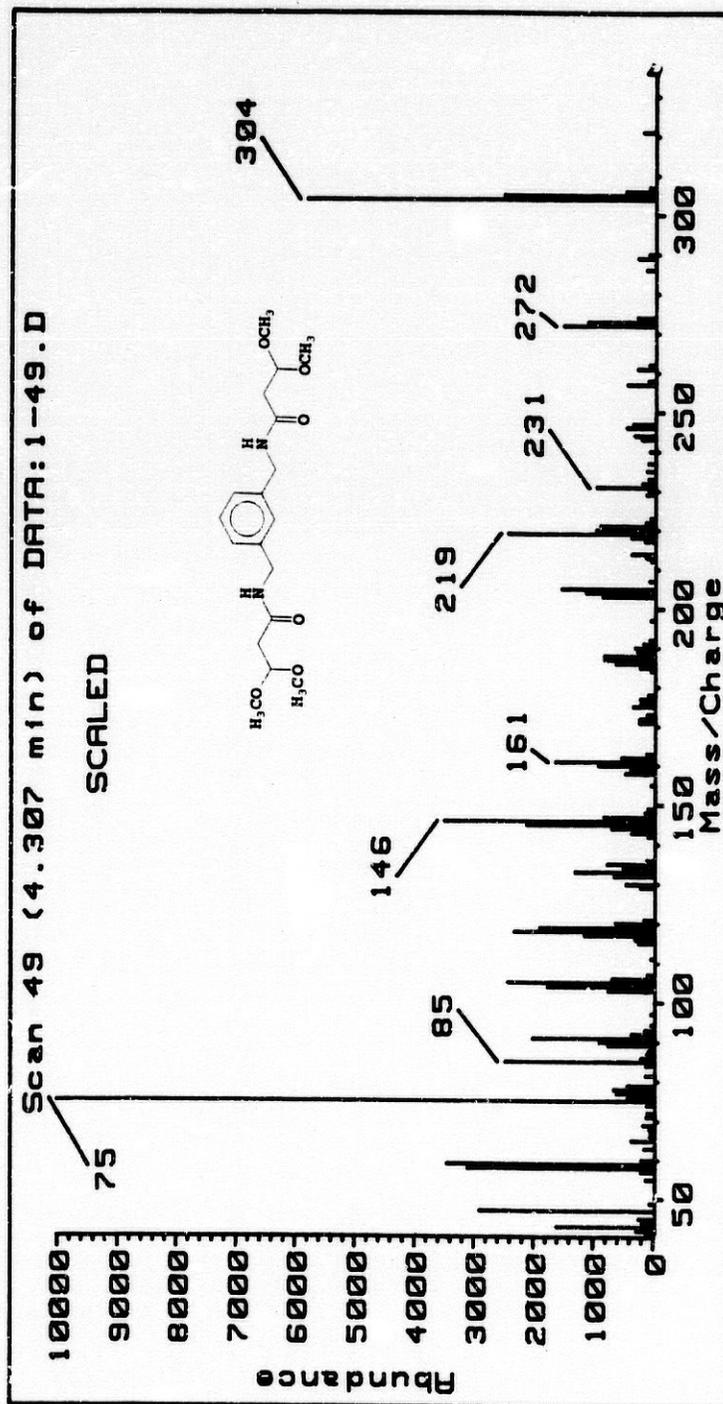
¹H-RMN-5.- N,N'-bis-(3,3-dimethoxypropanoil)- α,α' -diaminometaxileno **23**.



^{13}C -RMN-5.- *N,N'*-bis-(3,3-dimethoxypropanoil)- α,α' -diaminotaxileno **23**.



IR-5.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α, α' -diaminometaxileno **23**.

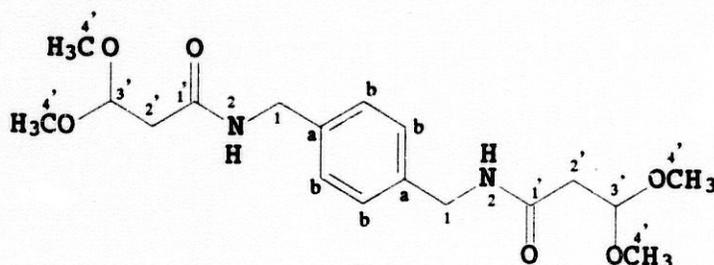


EM-2.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminometaxileno **23**.

3.1.6.- Síntesis y caracterización del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminoparaxileno 24.

La síntesis se realizó manteniendo la mezcla a reflujo a 80°C durante 10 días, el rendimiento obtenido fue del 49%. En un intento posterior de mejorar el método de síntesis, se llevó a cabo la reacción sin disolvente y catalizada con NH_4Cl , manteniéndola a reflujo durante 5 h, pero apenas se consiguió obtener un rendimiento del 22%.

El producto obtenido se identificó por sus propiedades espectroscópicas de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-6}$), de carbonos ($^{13}\text{C-RMN-6}$) y espectroscopía de infrarrojo (IR-6).



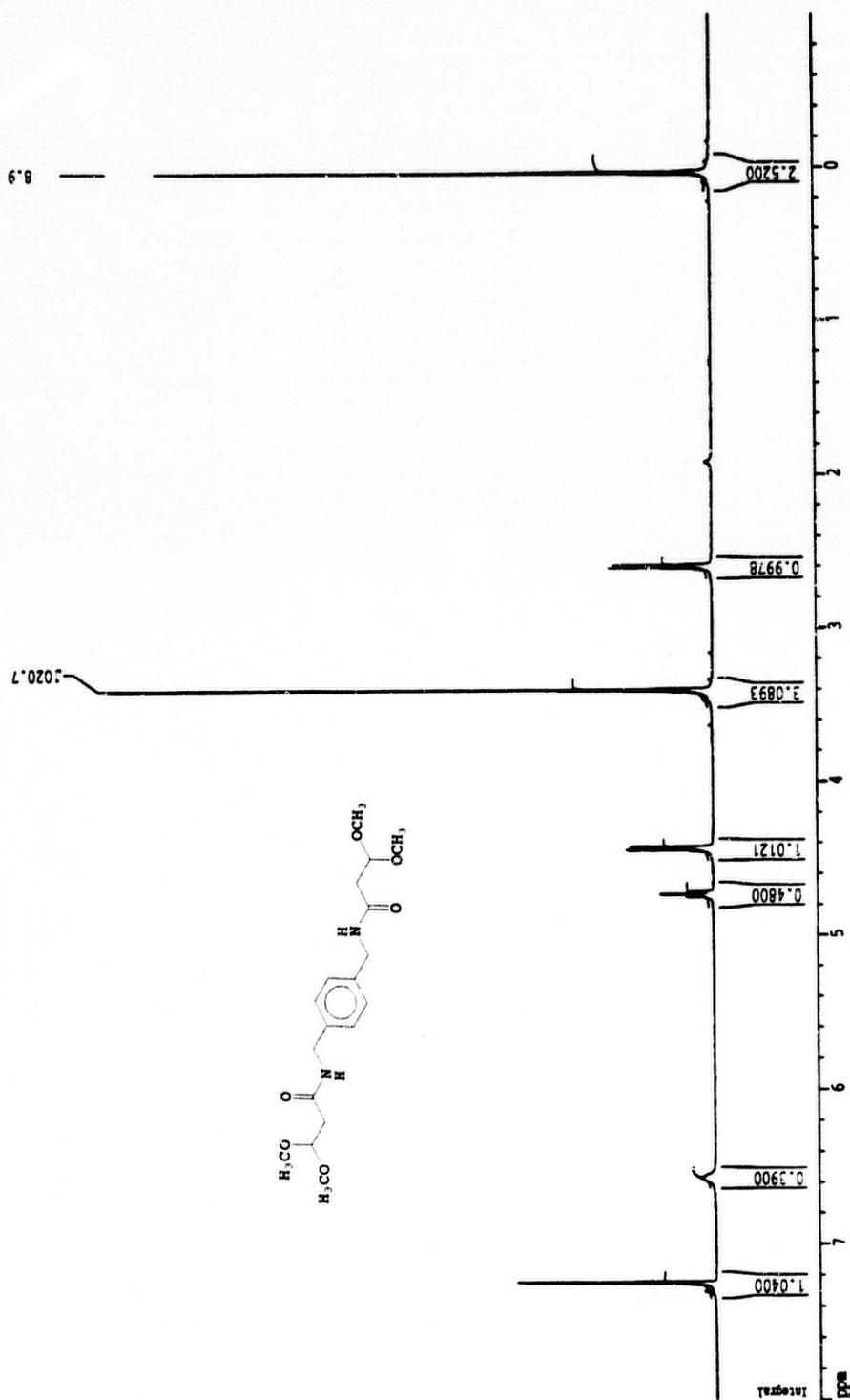
24

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-6}$)(300.13 MHz, Cl_3CD) es mucho más sencillo que el del otro derivado aromático puesto que al ser la molécula simétrica los cuatro protones aromáticos son equivalentes apareciendo como un singlete a 7.25 ppm, el resto de las señales son coincidentes en sus desplazamientos con las asignaciones realizadas en apartados anteriores.

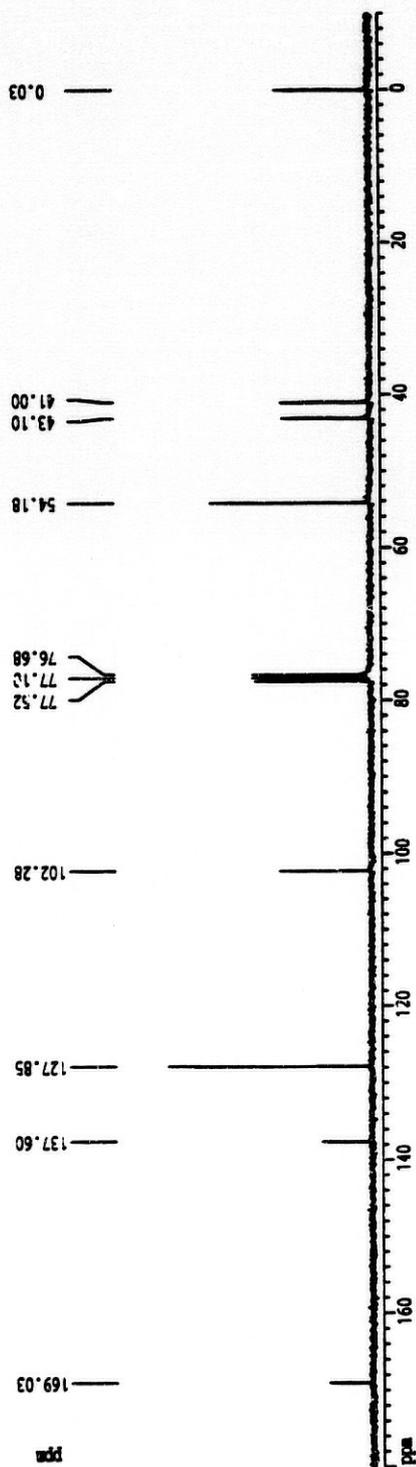
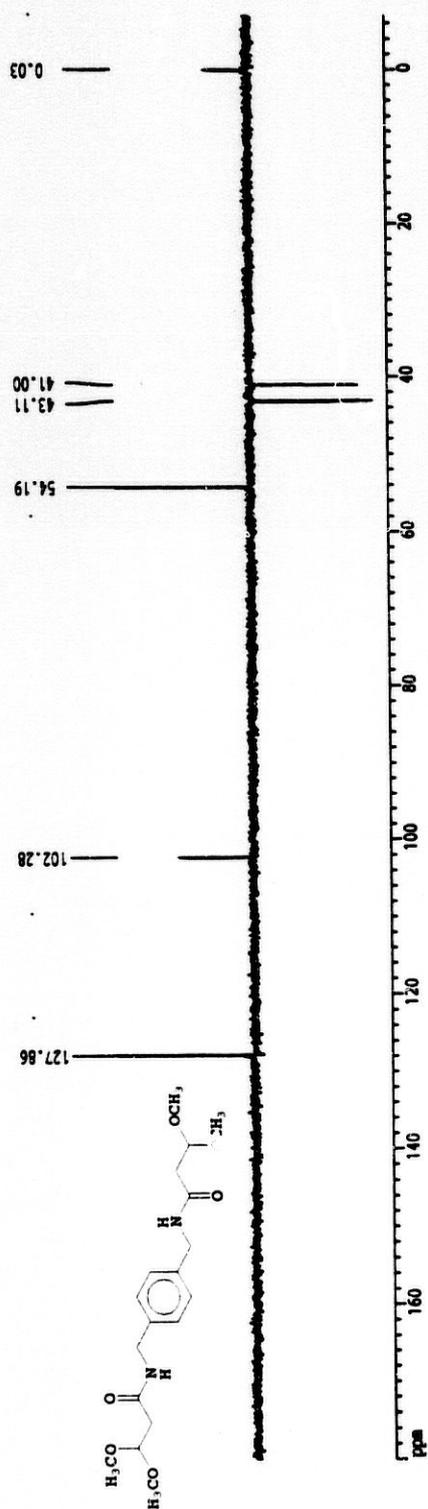
El espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-6}$)(75.78 MHz, Cl_3CD) confirma esta estructura, así pues observamos la señal de los C_a a 137,60 ppm, la señal

desaparece en el espectro DEPT; a 127.85 ppm encontramos la señal de los otros cuatro carbonos aromáticos C_a . El resto de señales coinciden con las asignaciones realizadas anteriormente.

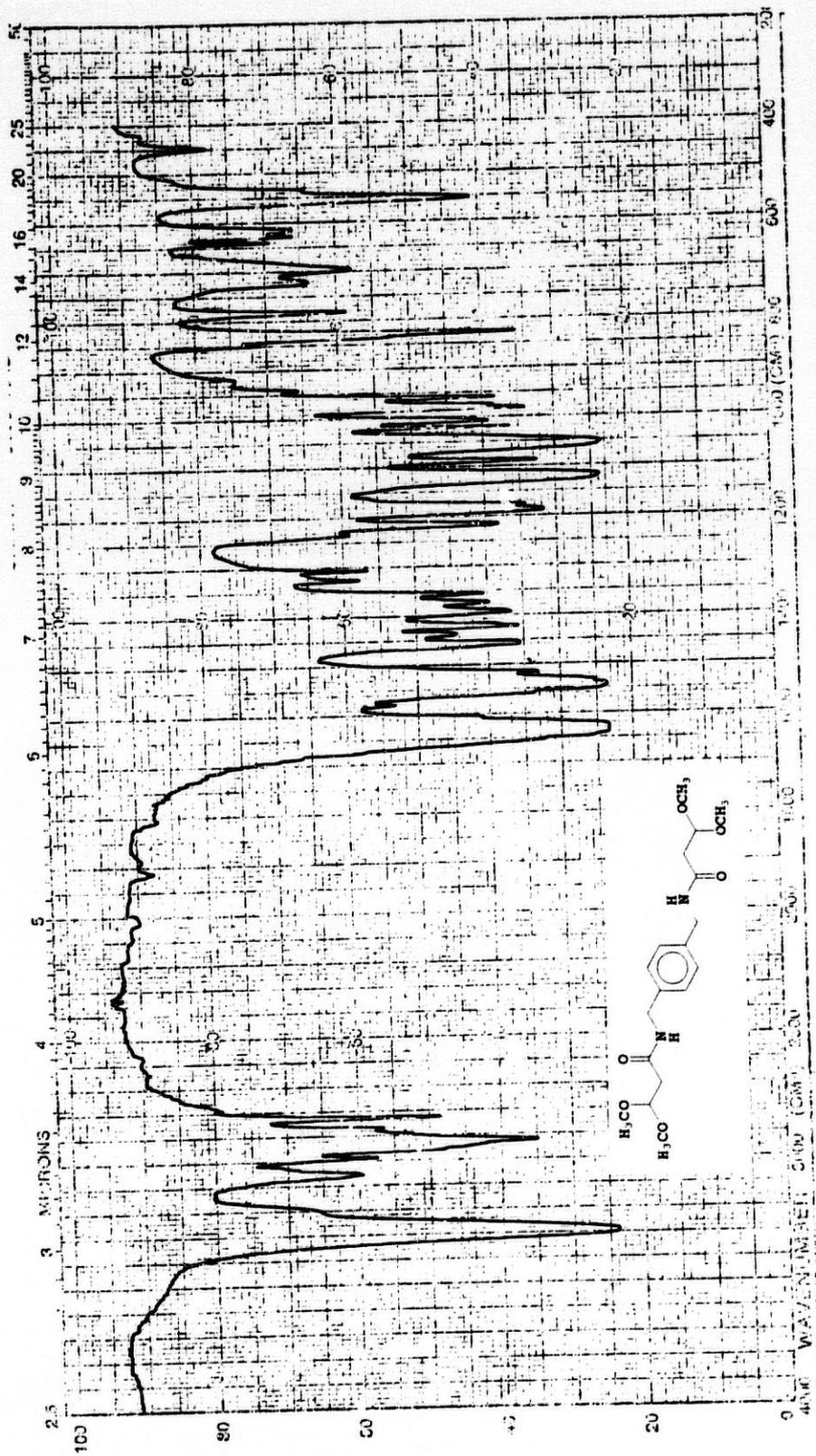
Para completar la identificación en el espectro de IR (IR-6) podemos ver las bandas de absorción características de los grupos funcionales de la molécula ($\bar{\nu} \text{ cm}^{-1}$): a 3301 banda de tensión del N-H; a 2931 banda de tensión del C-H; a 2836 banda propia de grupos metoxilo, a 1634 banda de absorción del carbonilo, a 1551 banda de flexión del N-H; entre 1461 y 1360 bandas propias de grupos metileno; a 1126 y 1058 señales características de asociación tipo éter correspondiendo en nuestro caso al acetal y finalmente a 830 y 785 señales características de compuestos aromáticos disustituidos en la posición para.



¹H-RMN-6.- N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-α,α'-diaminoparaxileno 24.



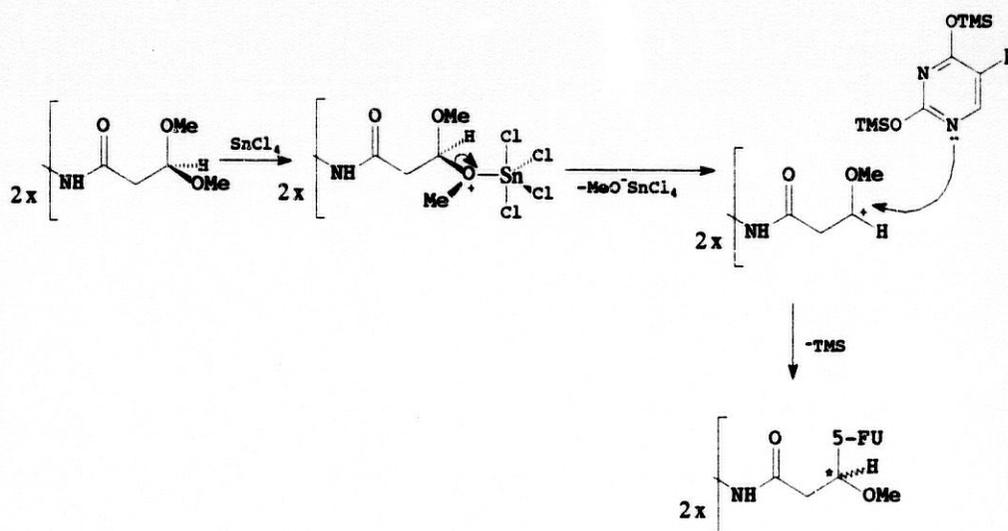
¹³C-RMN-6.- N,N'-bis-(3,3-dimethoxypropionil)- α , α' -diaminoparaxileno **24**.



IR-6.- *N,N'*-bis-(3,3-dimethoxypropanil)- α,α' -diaminoparaxileno 24.

3.2.- Preparación y caracterización de condensados con 5-fluorouracilo 25-29.

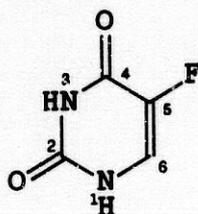
Los condensados con 5-fluorouracilo se prepararon siguiendo el método propuesto por Yasumoto⁴⁵ según el cual los acetales sufren el ataque nucleofílico del 5-FU convenientemente silanizado, el ataque es catalizado por el SnCl_4 el cual forma un complejo con el acetal, eliminando uno de los radicales metoxilo y permitiendo el ataque por parte del par de electrones del N-1 del 5-FU.



Al producirse el ataque del 5-FU sobre el carbocación plano cabe la posibilidad de que el 5-FU entre por un lado u otro de dicho plano, originando por tanto cuatro estereoisómeros, pero que al ser la molécula simétrica quedan reducidos a dos enantiómeros y una forma meso. En la presente memoria hemos obtenido en cada caso la mezcla de todos los estereoisómeros sin separar.

Antes de seguir adelante debemos aclarar que para referirnos a las distintas posiciones del anillo de piperidina aplicamos las normas de numeración

sistemática de la IUPAC, asignando a cada una de las posiciones los localizadores que se muestran:



Otro hecho a considerar son las posibilidades de sustitución en el 5-FU, que teóricamente pueden ser las posiciones N-1 y N-3 del anillo pirimidínico. En nuestro caso hemos observado que la sustitución se realiza preferentemente por el N-1 en lugar del N-3 al estar este último más impedido estéricamente por los dos carbonilos silanizados. Esto está en concordancia con los datos obtenidos por Ozaki⁶⁵ y colaboradores, que llevan a cabo por estudios de RMN la confirmación experimental de la posición de sustitución. De este modo llegan a la conclusión de que, un doblete agudo a $\delta=7-8$ ppm por acoplamiento del H_6 -F es indicativo que la sustitución se ha llevado a cabo en el N-1, mientras que un doblete a $\delta=7-8$ ppm por acoplamiento del H_6 con el F y con el N_1 -H indica que la sustitución se ha realizado en el N-3. En nuestras experiencias nunca hemos detectado la incorporación al N-3 del 5-FU, basándonos en estos criterios.

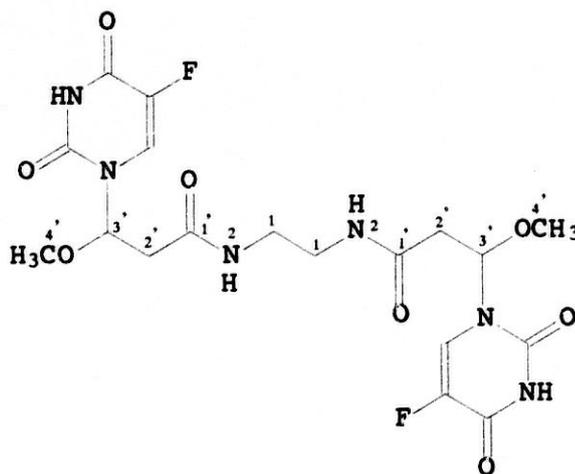
Para nuestros compuestos la reacción se lleva a cabo añadiendo sobre una suspensión de la amida y el 5-FU en acetonitrilo, el hexametildisilazano (HMDS) y el trimetilclorosilano (TCS), para provocar la silanización de la base y a continuación se adiciona lentamente una solución de $SnCl_4$ en acetonitrilo. Se deja en agitación durante varias horas. Para que la reacción se de en condiciones óptimas es necesario que el sistema esté completamente seco y los disolventes también deben de estar recién destilados y completamente exentos de humedad. Transcurrido el tiempo de reacción, tras las correspondientes

purificaciones por cromatografía preparativa en columna, tal como se describe en la parte experimental de esta memoria, se obtienen los productos buscados **25-29** con rendimiento que oscilan entre el 38 y el 59 %.

3.2.1.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina **25**.

La síntesis se lleva a cabo por el procedimiento general y es descrito en la parte experimental de esta misma memoria, obteniéndose el producto **25** con un rendimiento del 42%.

Se identifica el producto por sus propiedades espectroscópicas de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-7}$), de carbono ($^{13}\text{C-RMN-7}$), espectroscopía de infrarrojo (IR-7) y espectrometría de masas (EM-3).



25

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-7}$)(300.13 MHz, DMSO- d_6) se diferencia claramente del correspondiente al producto de partida **19**, y así podemos comprobar como a 7.87 ppm aparece la señal del H_6 del 5-FU como doblete por

el acoplamiento con el átomo de flúor, lo que nos confirma que efectivamente la sustitución se ha realizado por la posición N-1 del 5 fluorouracilo; los H_3 aparecen a campos mas bajos lo que confirma el paso de acetal a hemiaminal, así aparece a 5.77 ppm como dd acoplado con los H_2 ($J_{3,2}=5.7$ Hz); a 3.3 ppm aparece una señal ancha correspondiente al agua que contamina el DMSO; a 3.02 ppm aparece como un triplete ancho la señal de los H_1 . Otra diferencia con el espectro de la amida (1H -RMN-1) consiste en la señal de los H_2 que ahora aparece a 2.64 ppm como un sistema complejo de dos dobles dobletes, debido a que como consecuencia de la aparición en la molécula de dos centros quirales, estos H que antes eran idénticos ahora pasan a ser enantiotópicos, es por eso que aparecen dos señales, cada una de ellas correspondientes a un H del CH_2 , así pues aparece a 2.64 ppm un dd con una $J_{2a,3}=7.4$ Hz y a 2.52 ppm el otro dd con una $J_{2b,3}=5.7$ Hz, como cabe esperar la constante de acoplamiento geminal es idéntica para ambos siendo de $J_{gem}=14.7$ Hz.

En el espectro de ^{13}C -RMN (^{13}C -RMN-7)(75.78 MHz, DMSO- d_6) podemos observar las señales comentadas para **19** salvo la de los C_3 , que aparece a 83.70 ppm, además aparecen las señales propias del anillo de 5-FU siendo estas: a 157.11 ppm (d) la señal del C_4 ; a 149.54 ppm el C_2 ; a 140.38 ppm (d) el C_5 y a 124.46 ppm el C_6 ; las señales de C_4 , C_5 y C_6 aparecen desdobladas como consecuencia del acoplamiento con el átomo de fluor.

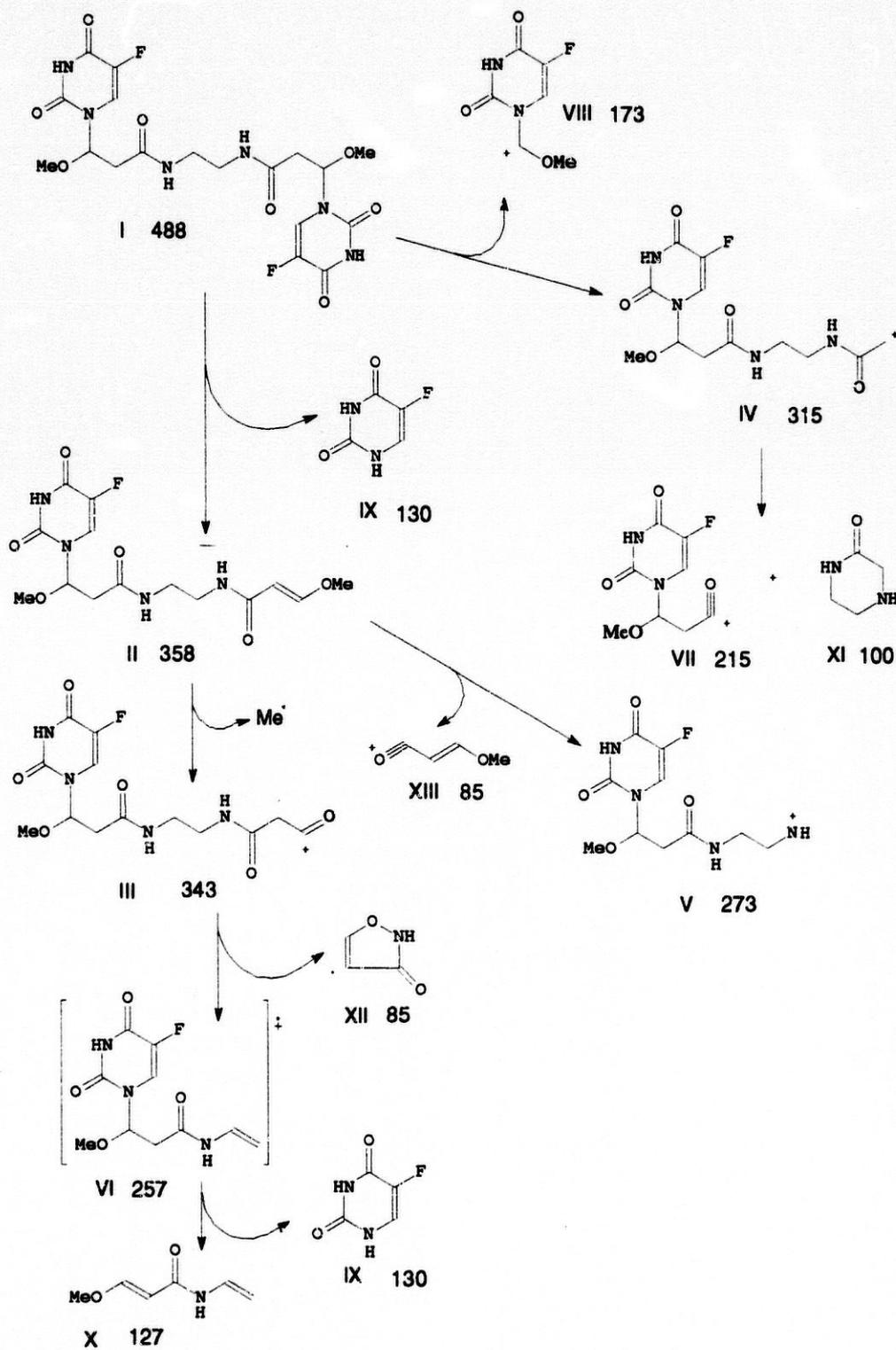
En el espectro de IR (IR-7)($\bar{\nu}$, cm^{-1}) vemos la banda de tensión N-H; a 3352 vemos la banda de tensión de C-H; entre 1740 y 1652 hay una banda ancha donde se localizan las señales del CO tanto de la amida como del 5-FU; a 1237 está la banda de tensión del C-F y 1081 aparece la banda de los éteres.

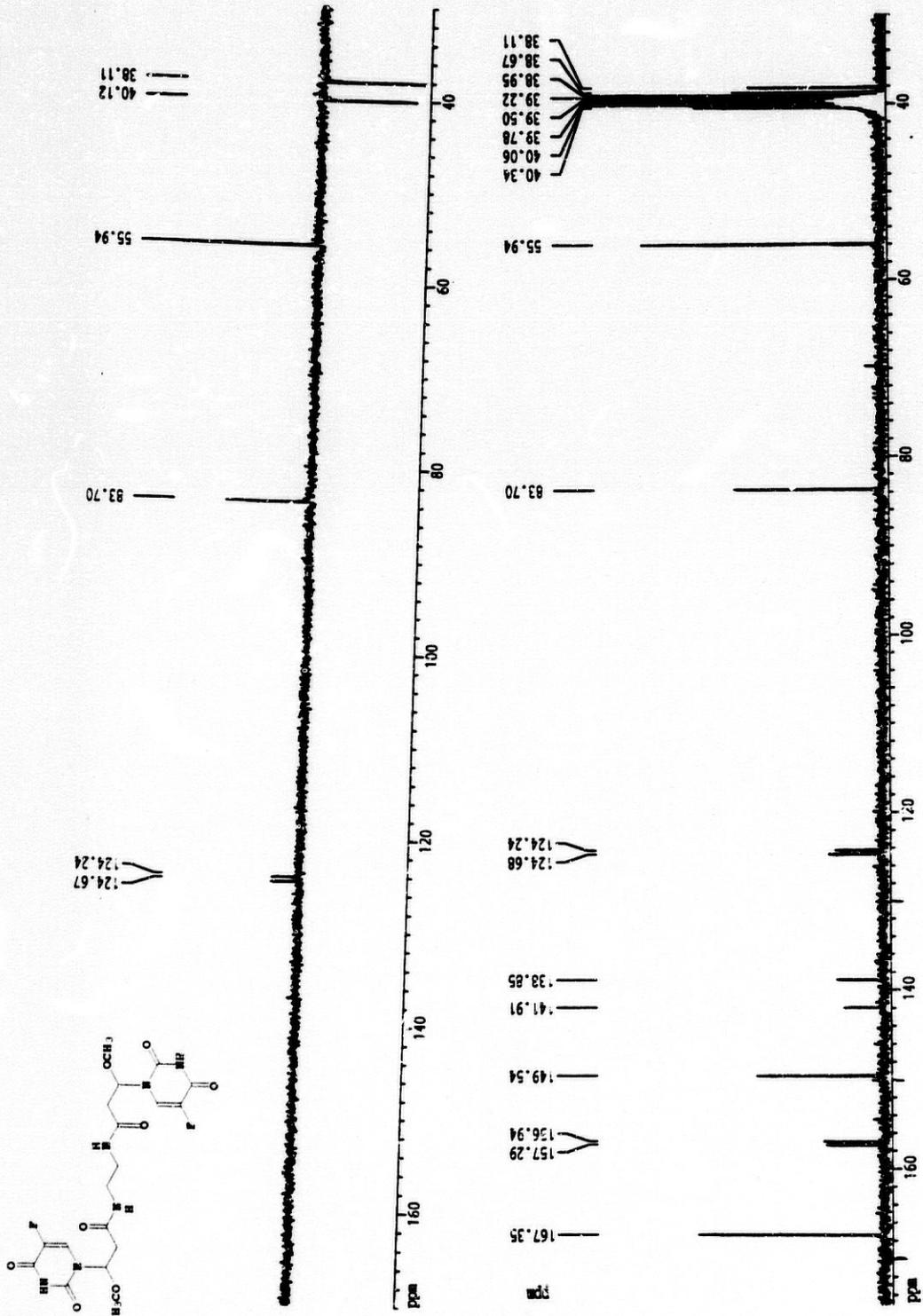
Del espectro de masas (EM-3) los fragmentos iónicos más significativos se detallan en la tabla III.

FRAGMENTO	e/m	ABUNDANCIA %
I	488	
II	358	0.14
III	343	0.15
IV	315	0.25
V	273	
VI	257	0.76
VII	215	0.78
VIII	173	2.25
IX	130	76.68
X	127	24.58
XI	100	1.57
XII	85	100

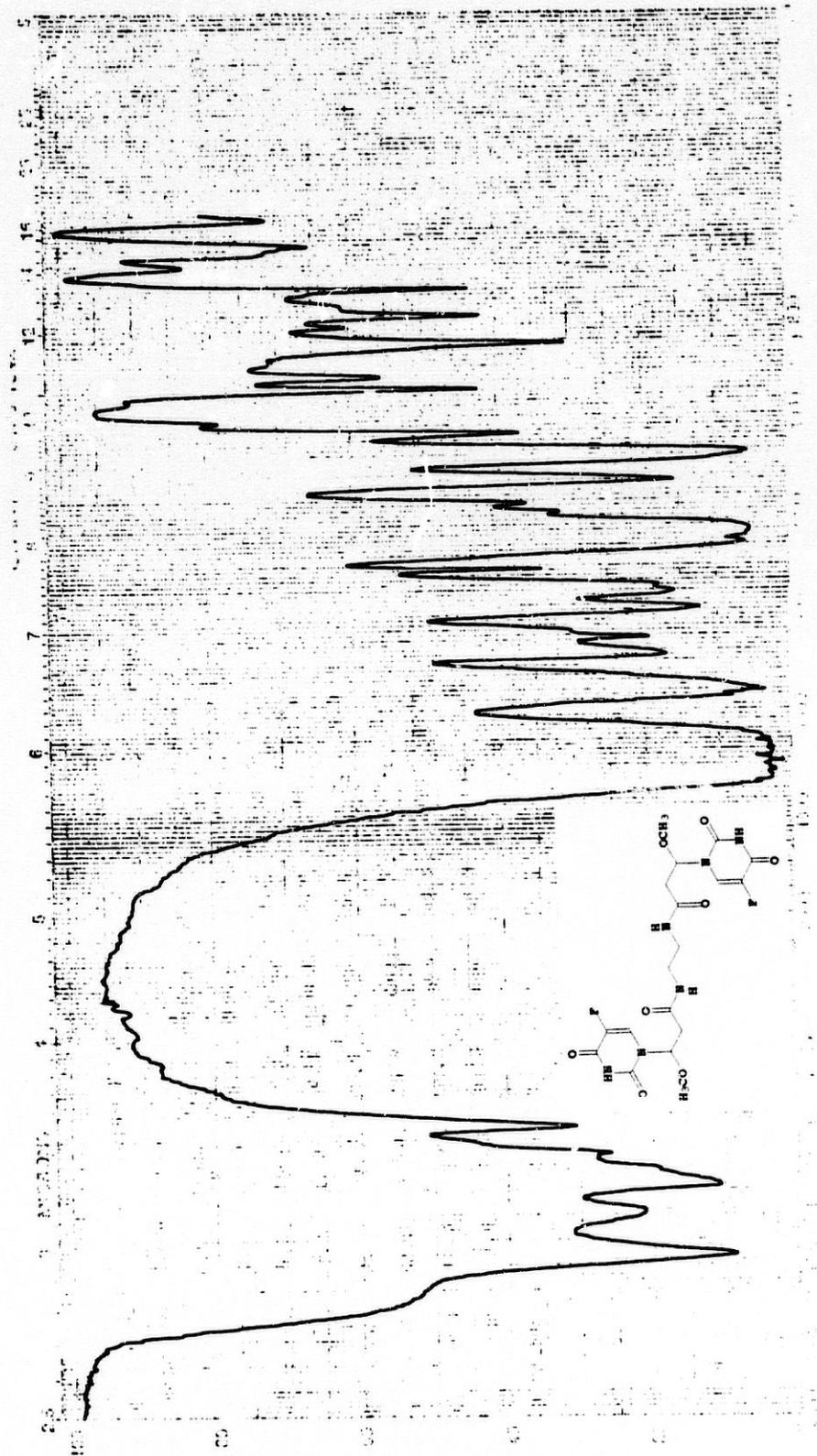
Tabla III

En el esquema siguiente recogemos las fragmentaciones más representativas del EM de 25. Como se puede observar algunas de ellas son similares a las obtenidas desde el 19 (EM-1), tras la correspondiente pérdida del fragmento de 5-FU (IX, e/m=130).

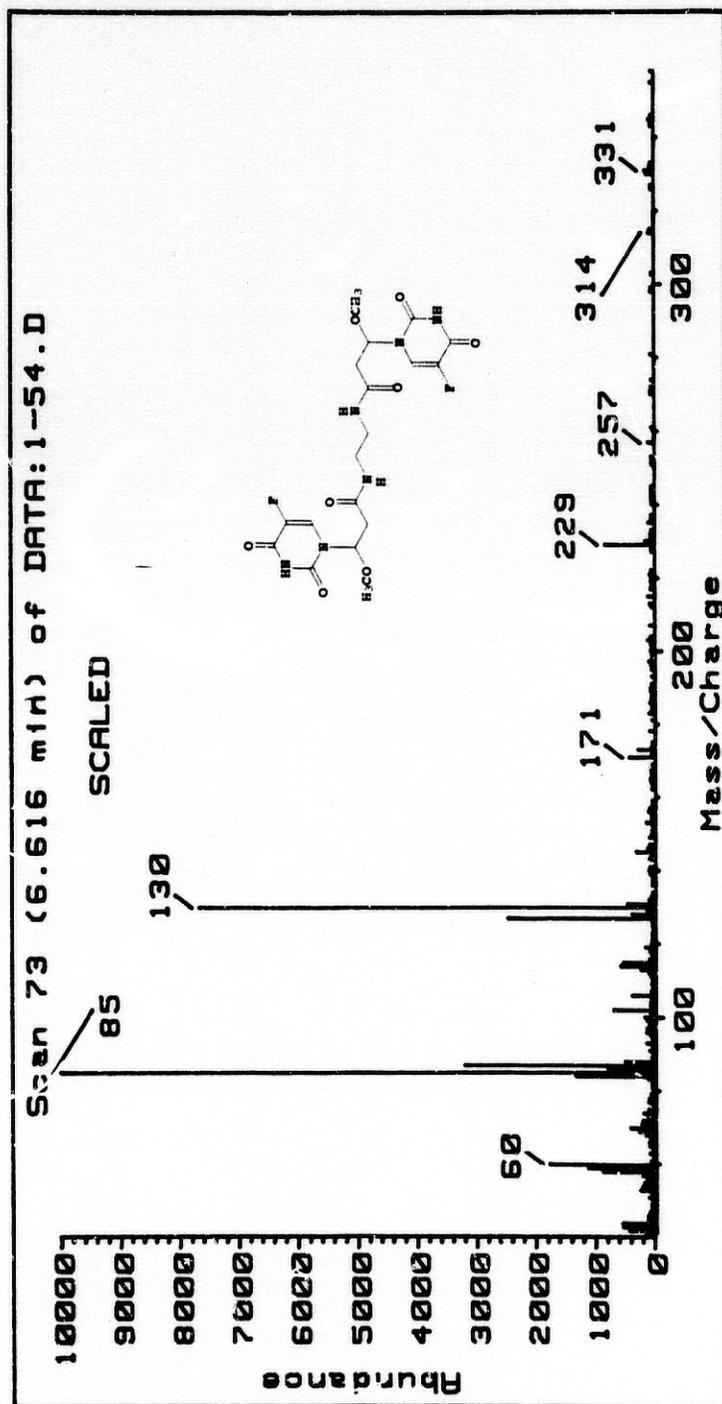




¹³C-RMN-7.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-ii)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina 25.



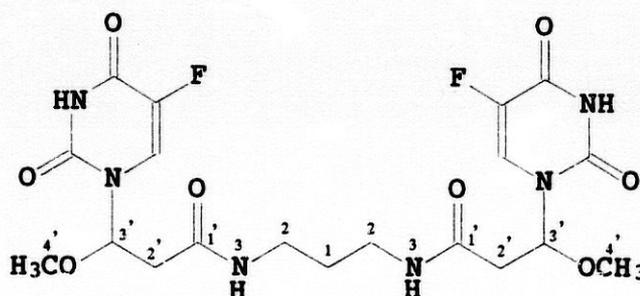
IR-7.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-ii)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina 25.



EM-3.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina 25.

3.2.2.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,3 propanodiamina **26**.

El producto **26** se obtuvo siguiendo el método descrito en el apartado 2.2 con un rendimiento del 37.8% y se identificó por sus propiedades espectroscópicas de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-8}$), de carbono ($^{13}\text{C-RMN-8}$) y espectroscopia de infrarrojos (IR-8).

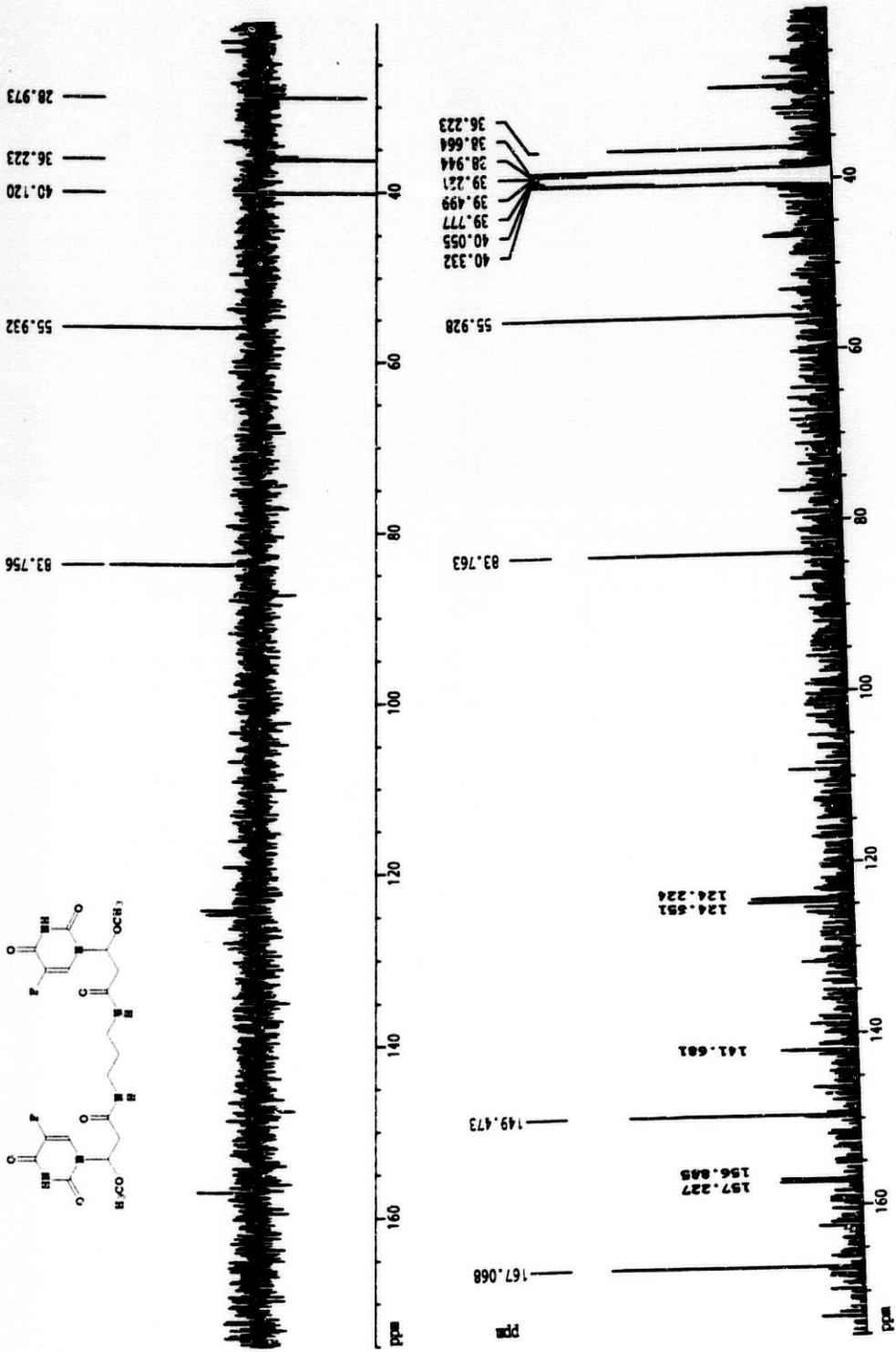


26

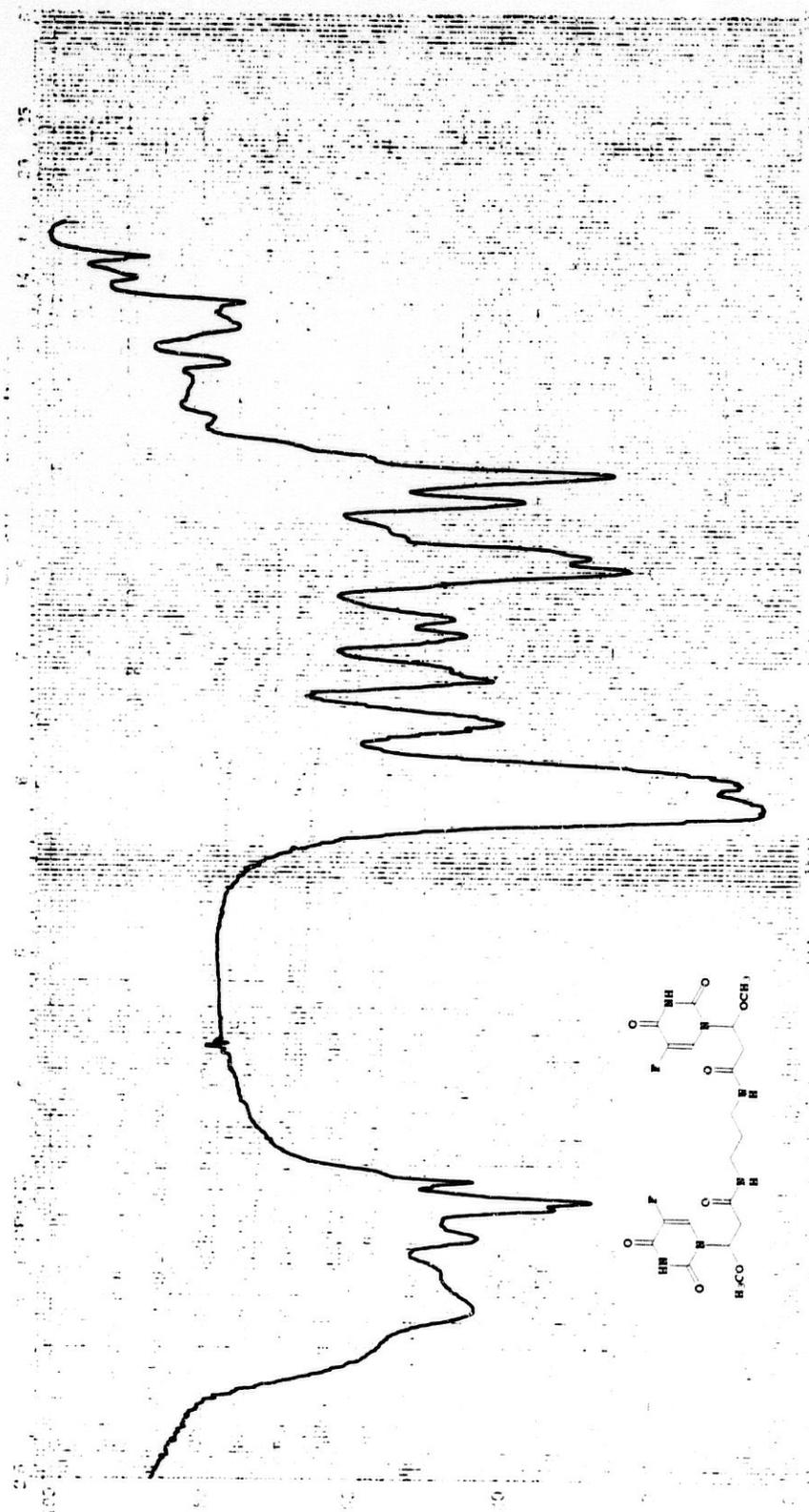
El espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-8}$)(300.13 MHz, DMSO-d_6) es en todo compatible con la estructura propuesta, las señales más características son la que aparece a 3.00 ppm y que se corresponde con los H_2 y que sigue un patrón de acoplamiento idéntico al descrito para la materia prima **21** y la otra señal es la que aparece a 2.60 ppm que se corresponde con los H_2 y que también es idéntica a la comentada en el apartado 3.2.1 para el producto **25**.

El espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-8}$)(75.78 Mhz, DMSO-d_6) es el que cabría esperar apareciendo las señales distintivas de 5-FU, así como la señal del C_1 a 28.9 ppm.

En el espectro de infrarrojos (IR-8)($\bar{\nu}$, cm^{-1}) podemos observar las siguientes bandas: a 2932 tensión de C-H, a 1715 banda del carbonilo del 5-FU,



^{13}C -RMN-8.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-1,3-propanodiamina **26**.

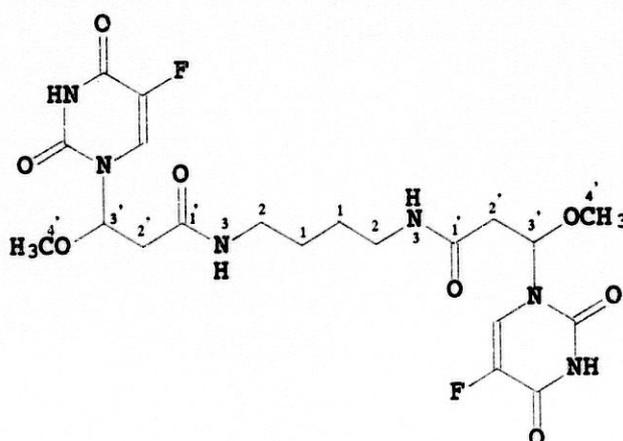


IR-8.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-1,3-propanodiamina **26**.

a 1669 banda del carbonilo de la amida, a 1550 flexión de N-H, a 1469 banda de CH₂, a 1259 banda de C-F y a 1078 banda de éteres.

3.2.3.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3 metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina 27.

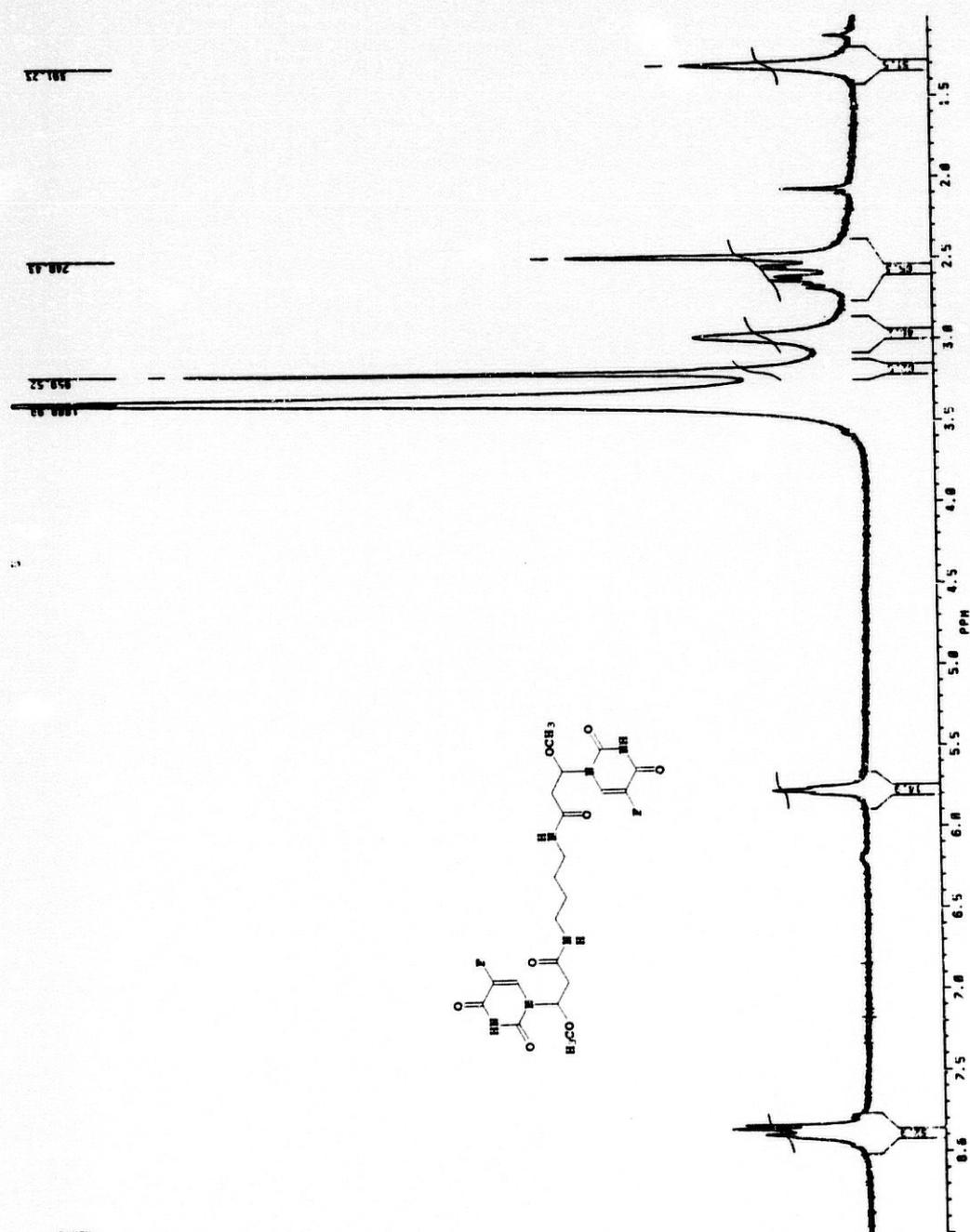
El compuesto 27 se obtuvo con un rendimiento del 48% según el método general descrito en el apartado 3.2 y la identificación se realizó por las propiedades espectroscópicas de resonancia de protones (¹H-RMN-9), de carbono (¹³C-RMN-9) y espectroscopía infrarroja (IR-9).



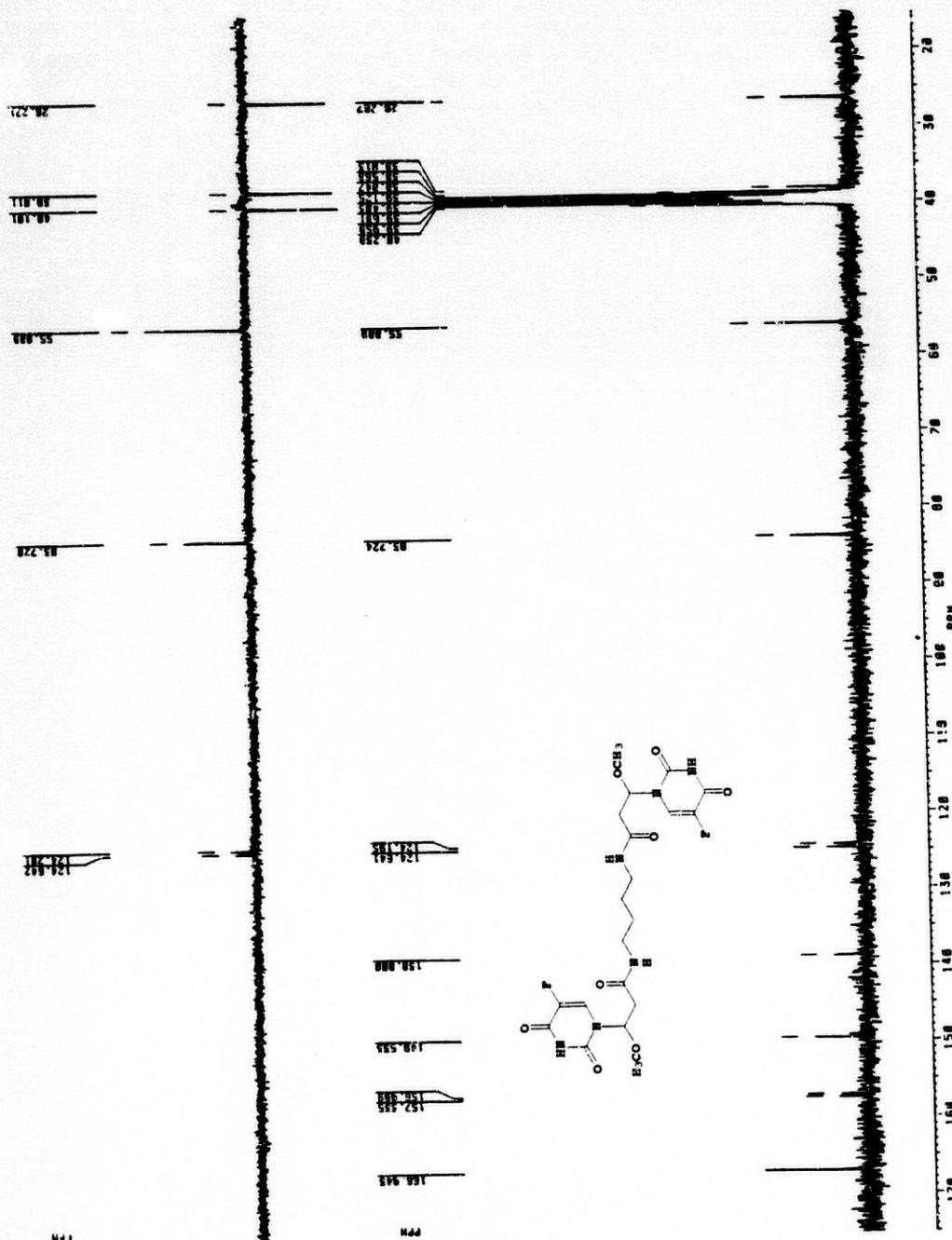
27

En el espectro de ¹H-RMN (¹H-RMN-9)(300.13 MHz, DMSO-d₆) a 2.58 ppm aparecen los H₂ con el patrón de acoplamiento general para todos estos condensados descrito en el apartado 3.2.1.; Las señales de los H₂ a 2.98 ppm y de los H₁ a 1.30 ppm aparecen ambas como dos singletes anchos debido al ensanchamiento inducido por los NH.

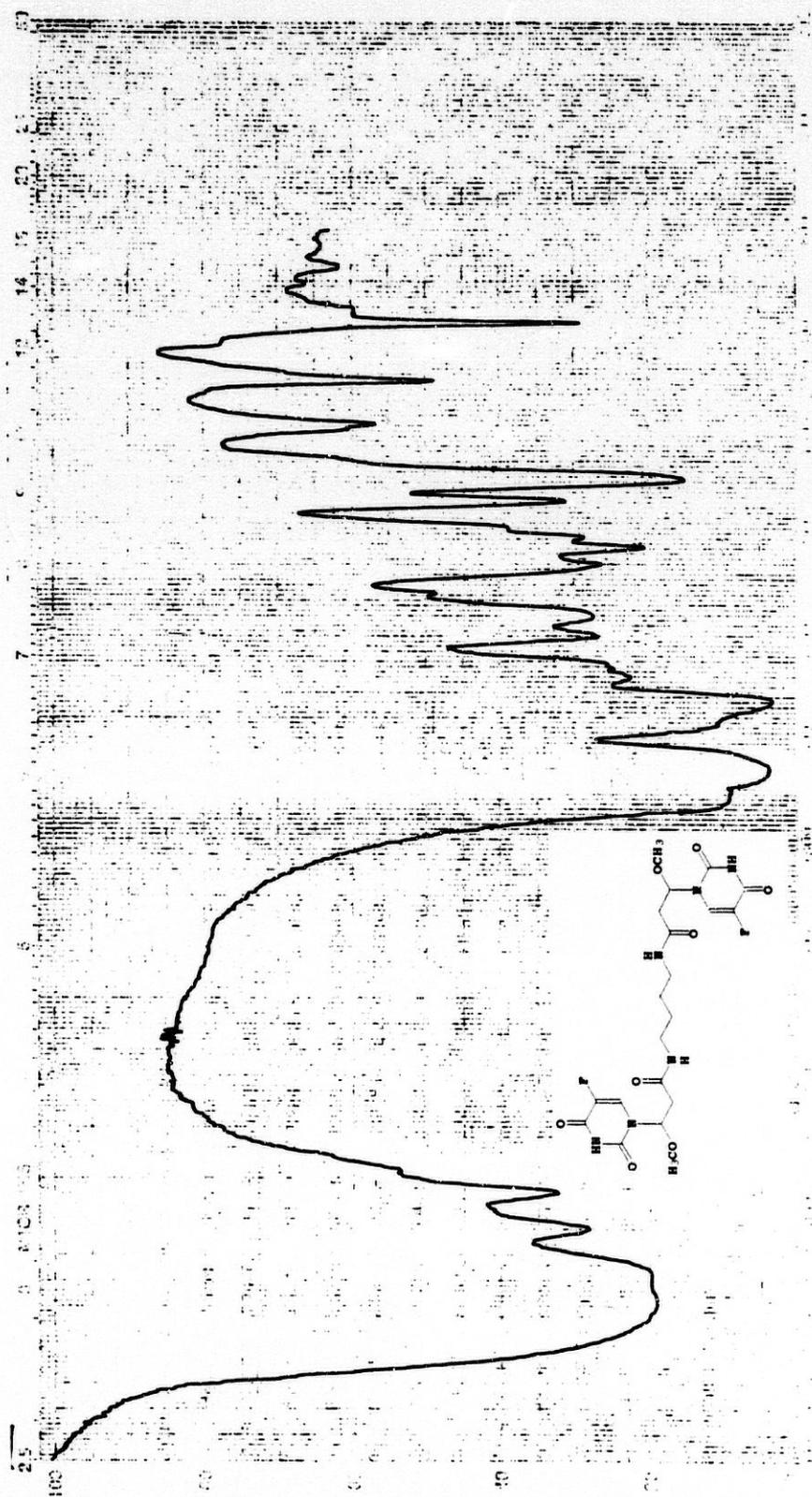
En el espectro de ¹³C-RMN (¹³C-RMN-9)(75.78 MHz, DMSO-d₆) no aparece ningún aspecto de interés diferente de los comentados anteriormente.



¹H-NMR-9.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina 2Z.



¹³C-RMN-9.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina 27.

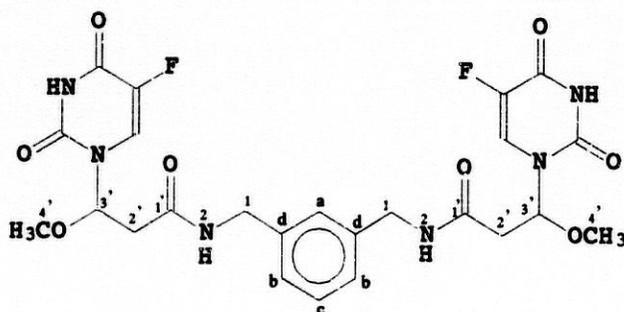


IR-9.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina **27**.

El espectro de infrarrojos (IR-9)($\bar{\nu}$, cm^{-1}) muestra las siguientes bandas de interés: entre 1696 y 1653 banda ancha que incluye los CO de la amida y del 5-FU; a 1521 banda de flexión del N-H; a 1218 banda de tensión de C-F y a 1086 banda de éteres.

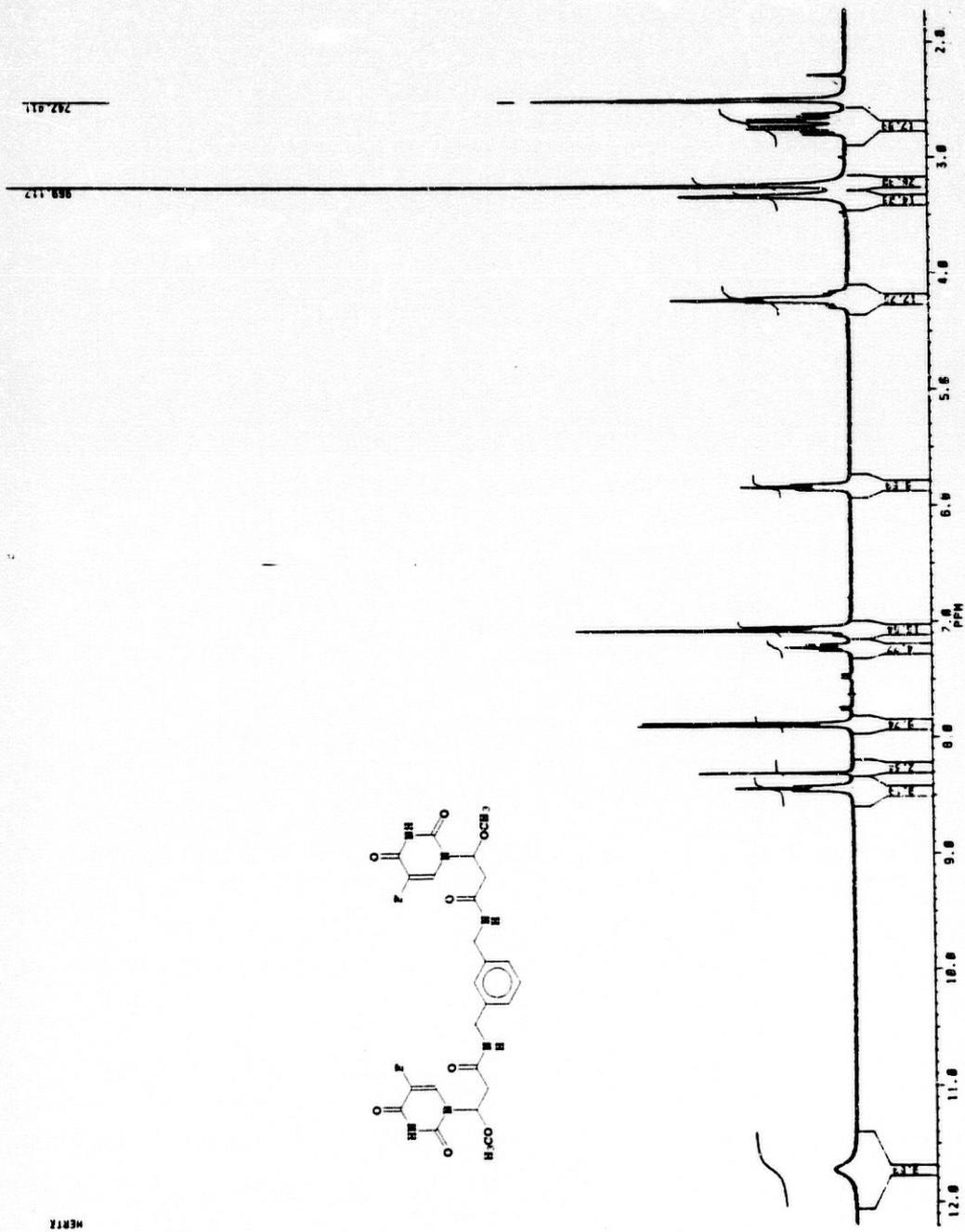
3.2.4.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminometaxileno 28.

El compuesto 28 se obtuvo siguiendo el método descrito en el apartado 3.2, confirmando también en la serie aromática, la unión a la molécula del 5-FU por el N-1. El rendimiento de la reacción fue de un 45.4%. La identificación se realizó en base a las propiedades espectroscópica de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-10}$), de carbono ($^{13}\text{C-RMN-10}$) y espectroscopía de infrarrojos (IR-10).



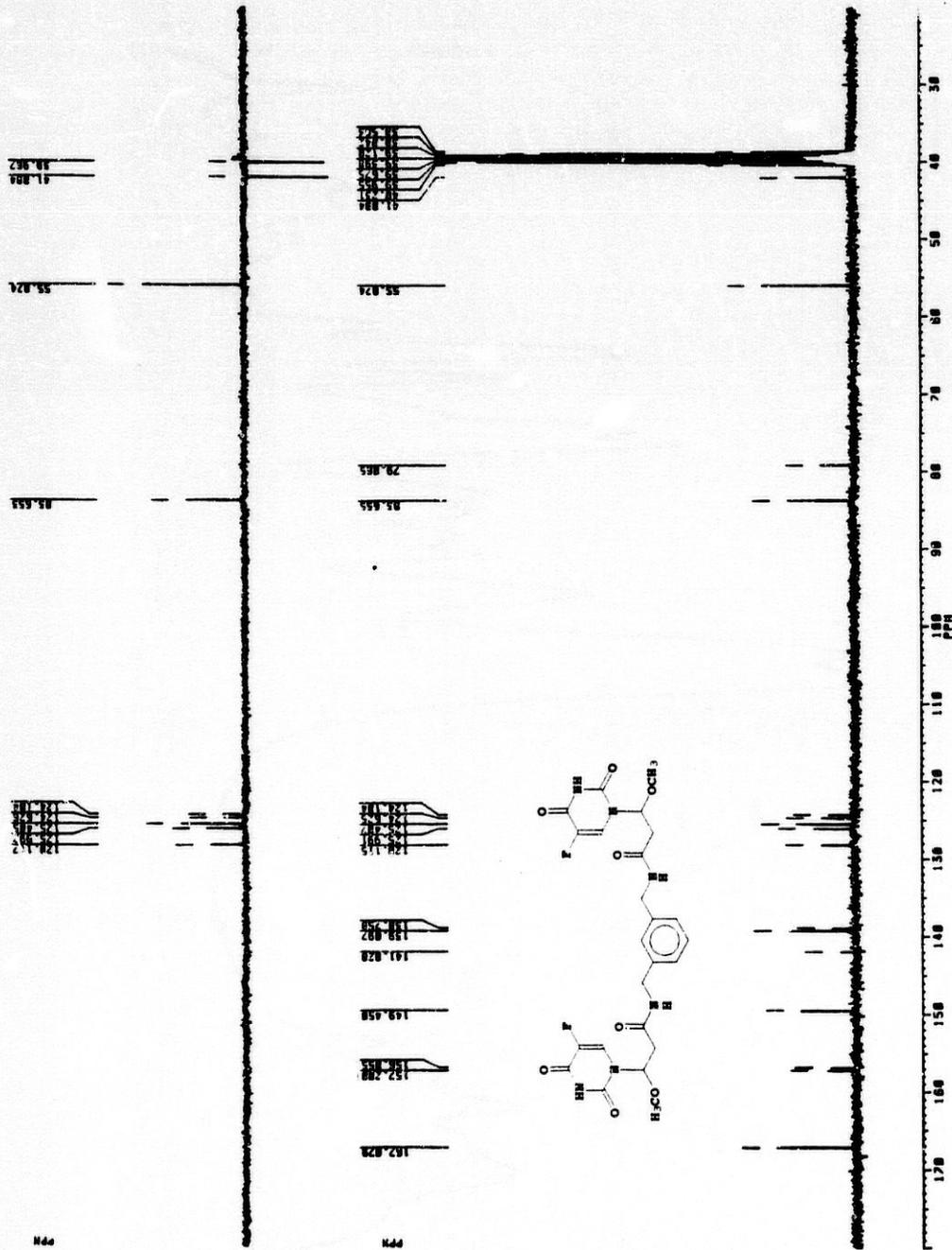
28

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-10}$)(300.13 MHz, DMSO-d_6) encontramos diferencias notables con el del producto de partida (23, $^1\text{H-RMN-5}$), la señal de los H_2 si que aparece como un triplete claro a 8.43 ppm acoplado con los H_1 bencílicos ($J_{1,2}=5.6$ Hz); asimismo la señal de los H_1 también aparece modificada, viéndose como multiplete a 4.21 ppm, esta variación puede ser debida a que al igual que ocurre con los H_2 , al ser quiral la molécula estos H sean también enantiotópicos, apareciendo entonces esta señal como dos dobles

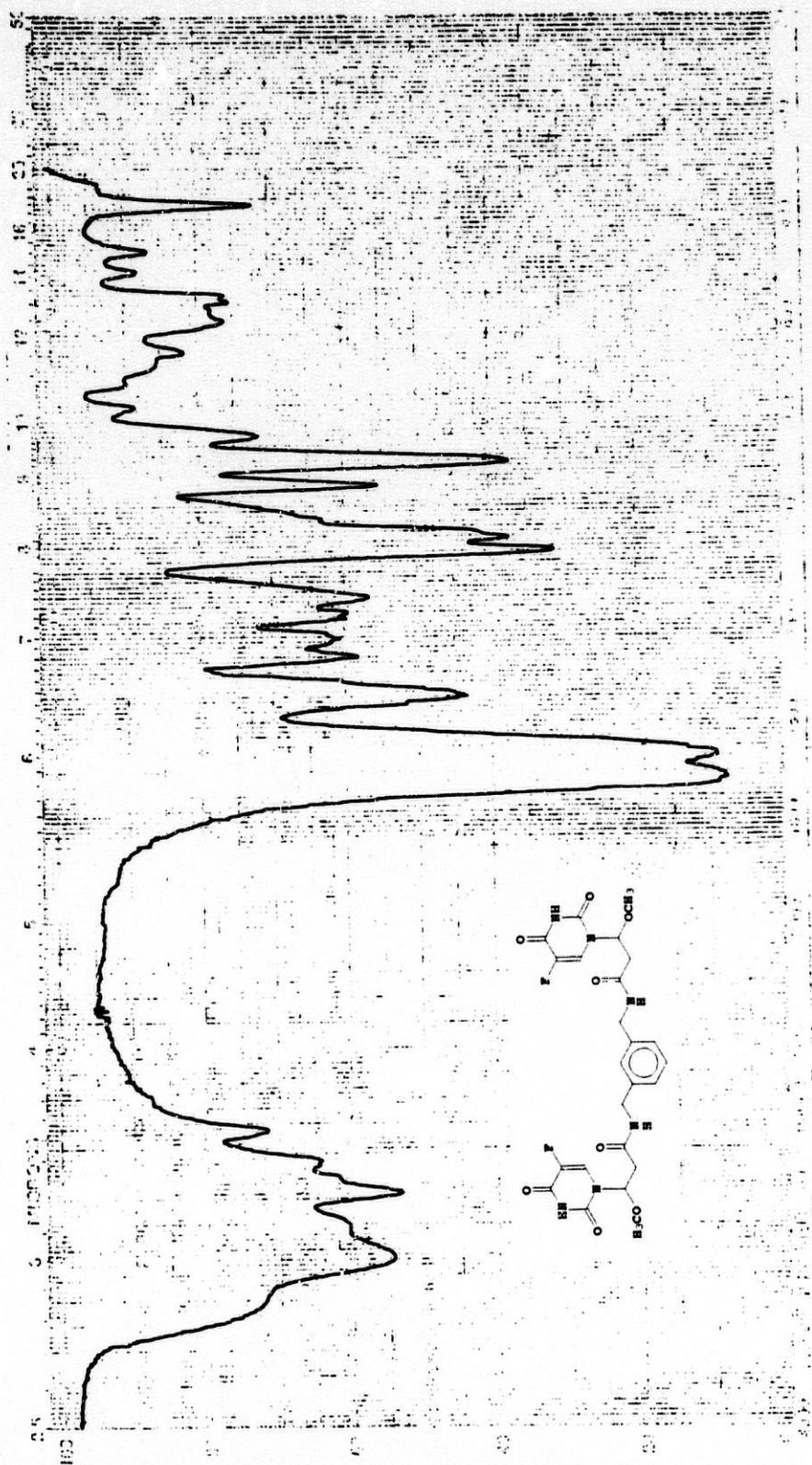


¹H-RMN-10.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]- α, α' -diaminometaxileno **2B**.

HERTZ



¹³C-RMN-10.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-α, α'-diaminometaxileno **28**.



IR-10.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]- α, α' -diaminometaxileno **29**.

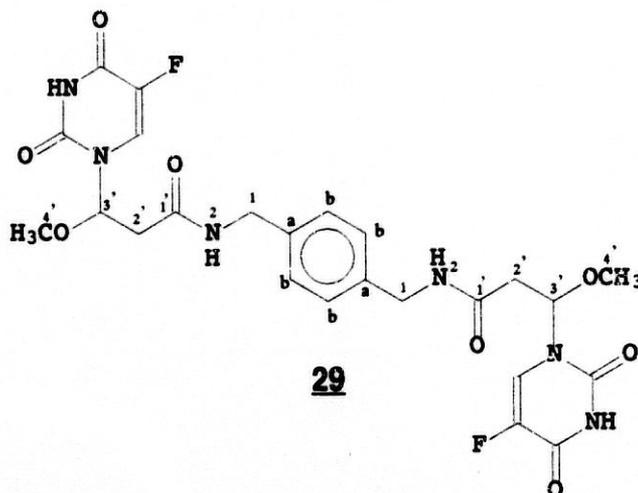
dobletes pero que en el espectro aparecen solapados haciendo imposible un estudio más detallado ($J_{gem}=15.5$ Hz, $J_{2a-1}=J_{2b-1}=5.6$ Hz).

El espectro de ^{13}C -RMN (^{13}C -RMN-10)(75.78 MHz, DMSO-d_6) no presenta rasgos destacados aparte de los señalados para la materia prima **28** en el apartado 3.1.5 (^{13}C -RMN-5) y las características comunes a todos los condensados con 5-FU descritos anteriormente.

El espectro de infrarrojos (IR-10)($\bar{\nu}$, cm^{-1}) confirma la estructura propuesta, aparecen las siguientes bandas: a 3336 tensión de N-H; a 1714 CO de 5-FU; a 1669 CO de amida; a 1550 flexión de N-H; entre 1434 y 1353 bandas del CH_2 ; a 865 y 765 bandas de aromáticos meta disustituídos.

3.2.5.- Caracterización del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3 metoxipropanoil]- α,α' -diaminoparaxileno **29**.

La obtención del compuesto **29** se realizó siguiendo el método descrito en el apartado 3.2 lográndose obtener un rendimiento en la reacción de un 59% .

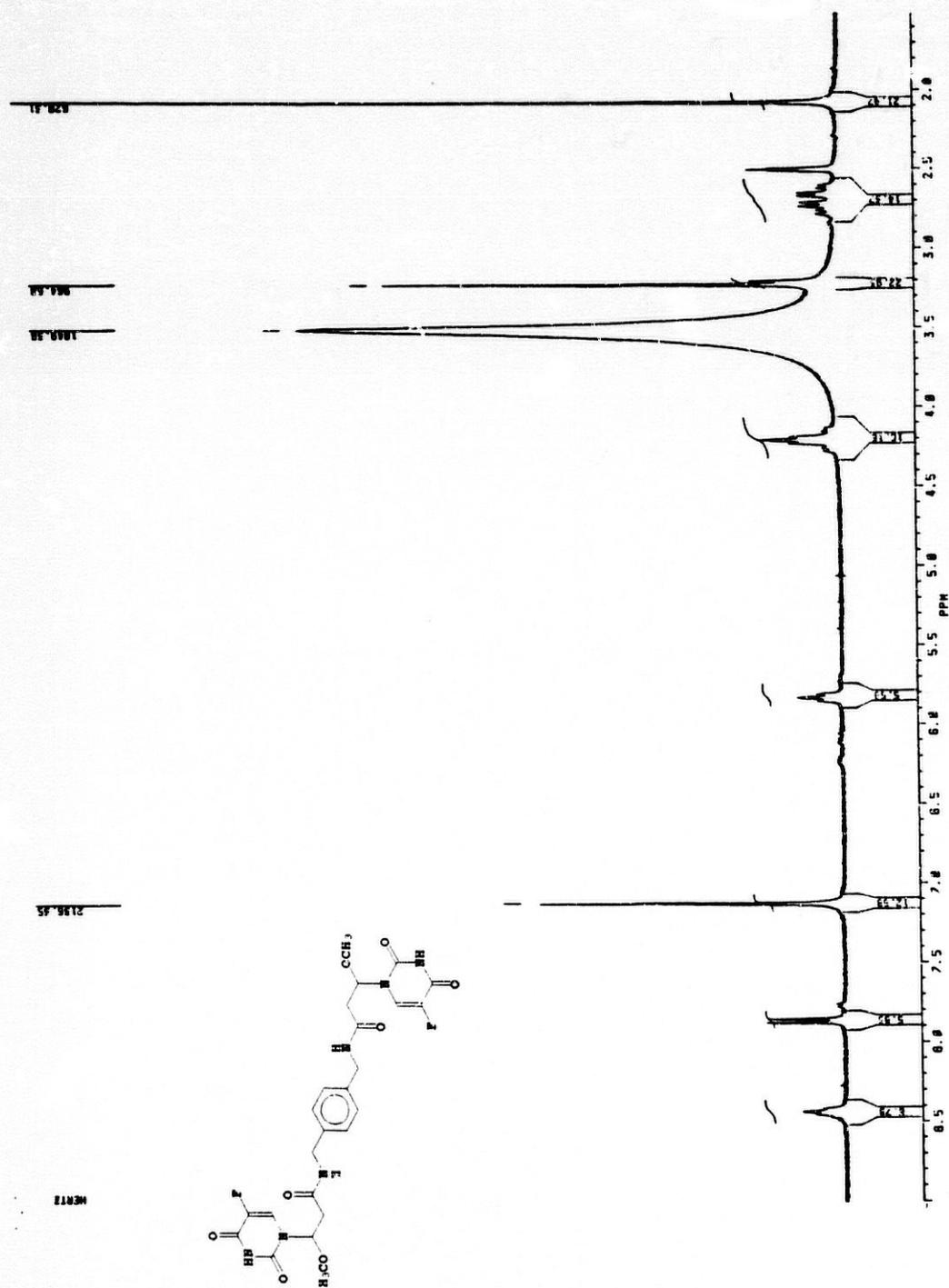


Su caracterización se realizó por sus propiedades espectroscópicas de resonancia de protones ($^1\text{H-RMN-11}$), de carbonos ($^{13}\text{C-RMN-11}$) y de infrarrojos (IR-11).

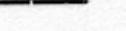
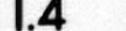
En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-11}$)(300.13 MHz, DMSO- d_6) al igual que en el anterior ($^1\text{H-RMN-10}$) la señal de los H, aparece como multiplete, no siendo posible su estudio; el resto de señales son compatibles con las que cabría esperar para la estructura propuesta.

El espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-11}$) tampoco merece mayor comentario siendo las señales del todo acordes con la estructura propuesta, sin observar ningún detalle reseñable adicional a los ya citados.

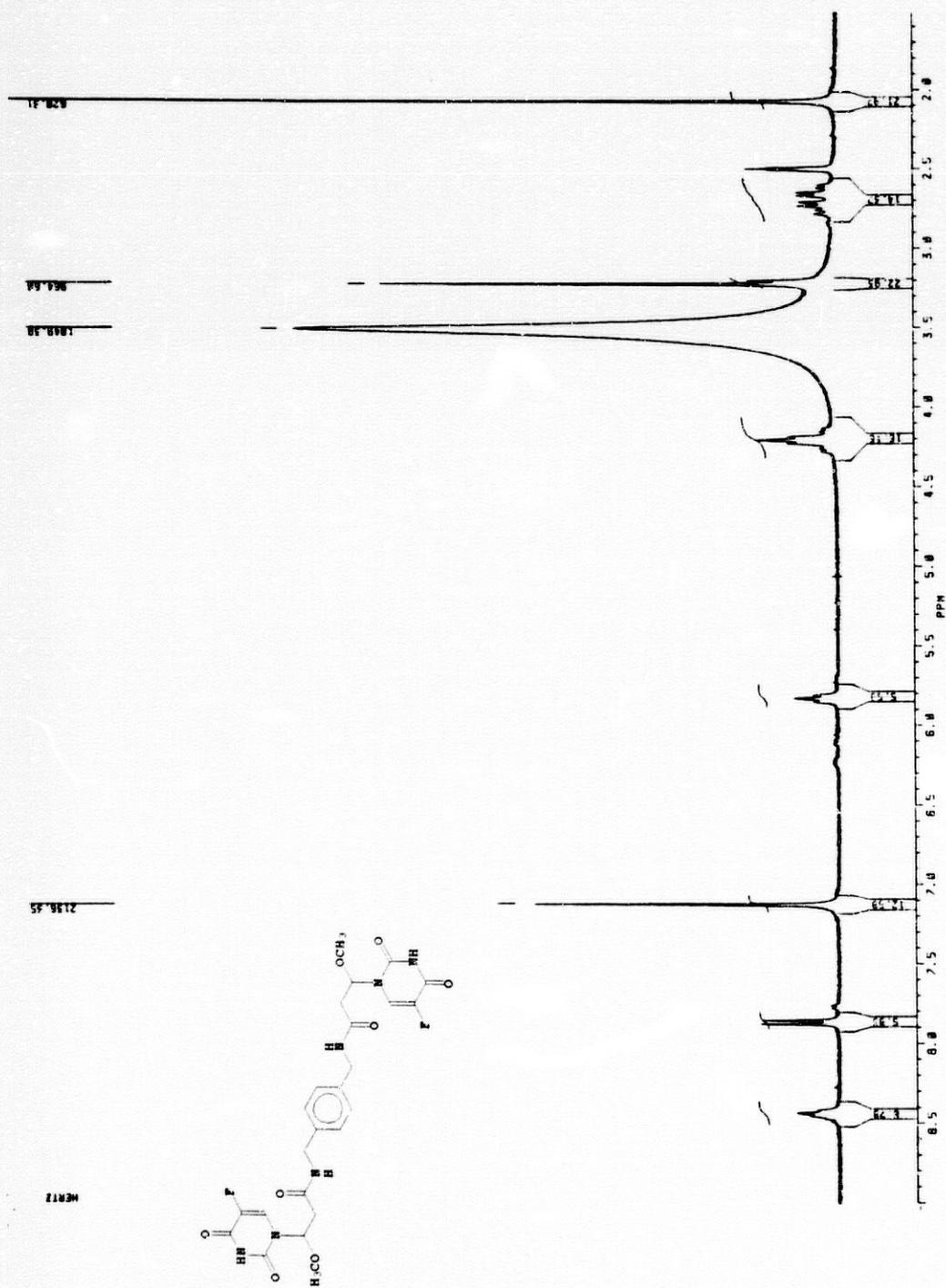
En el espectro de infrarrojos (IR-11)($\bar{\nu}$, cm^{-1}) aparecen las siguientes señales: a 3322 banda de tensión de N-H; a 3072 tensión de C-H; a 1715 CO de 5-FU; a 1662 CO de la amida; a 1258 banda de tensión de F-C y a 750 banda de aromáticos para-disustituídos.



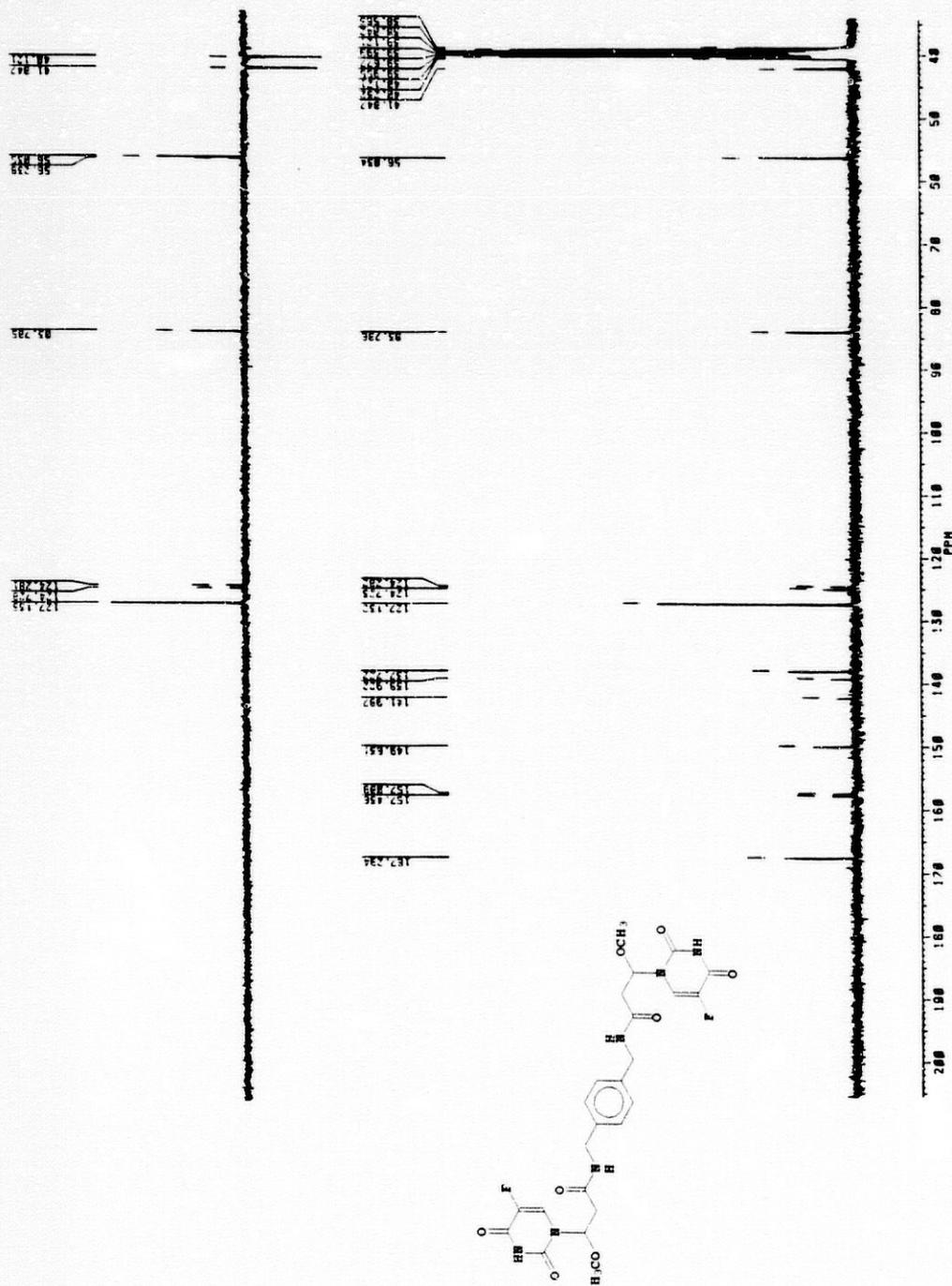
^1H -RMN-11.- *N,N'*-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminoparaxileno **29**.



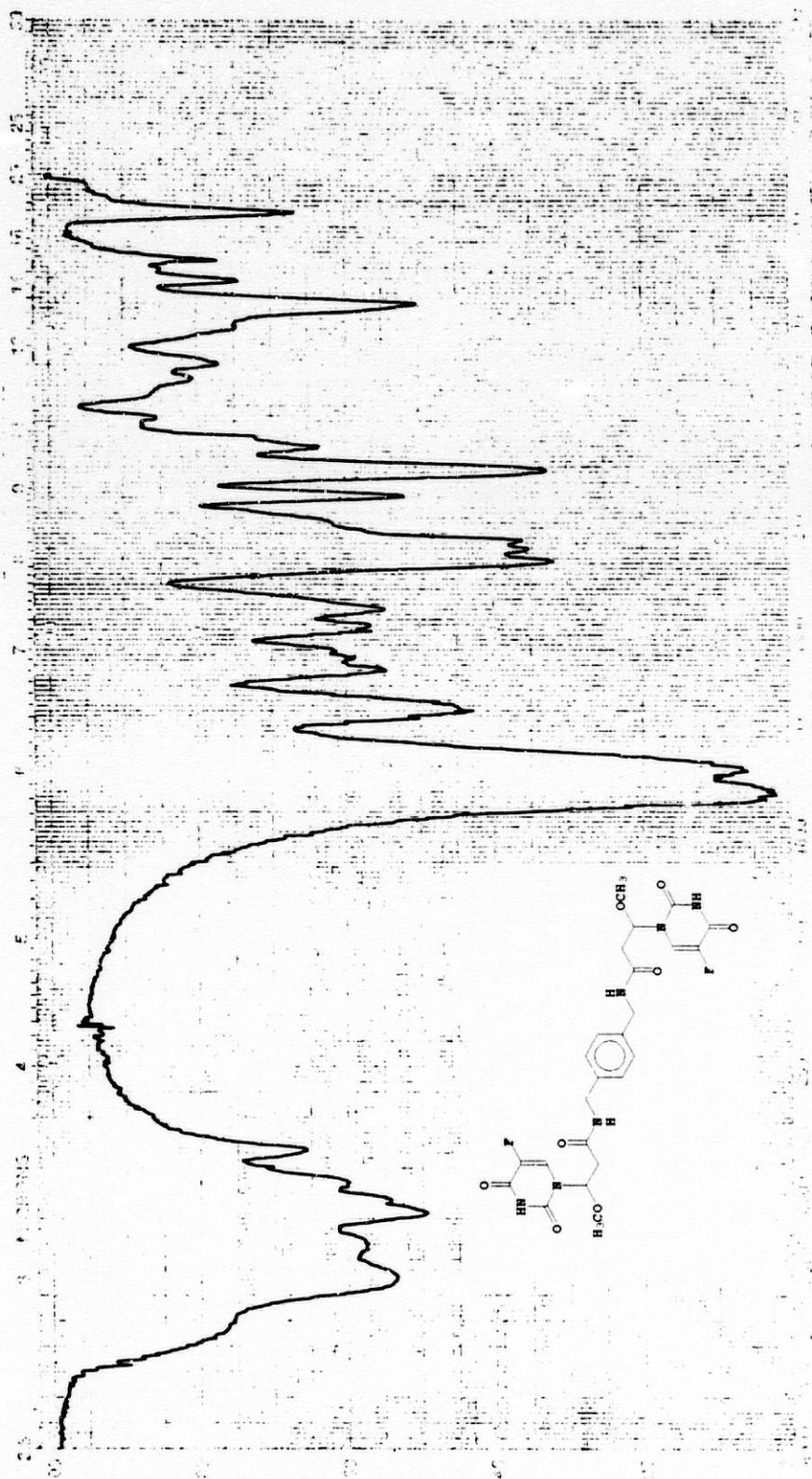
MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)



¹H-RMN-11.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropanoil]-α, α'-diaminoparaxileno **29**.



^{13}C -RMN-11.- *N,N'*-bis-[3-(5-fluorouracil-1-ii)-3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminoparaxileno **29**.



IR-11.- N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-yl)-3-metoxipropionil]-α,α'-diaminoparaxileno **29**.

Como resumen del estudio realizado sobre los distintos espectros de ^{13}C -RMN de todos los derivados, en la siguiente tabla se muestran los desplazamientos químicos correspondientes a los distintos C de las amidas junto con los desplazamientos de los C los condensados con 5-fluorouracilo.

	<u>19</u>	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>27</u>	<u>28</u>	<u>29</u>
C_1	170	169.67	169.18	169.09	169.03	167.35	167.06	166.94	167.07	167.29
C_2	40.87	40.98	40.91	40.90	41.00	40.12	40.12	40.10	39.96	40.12
C_3	102.15	102.25	102.26	102.26	102.28	83.70	83.76	83.72	83.65	83.78
C_4	54.12	54.02	54.10	54.10	54.18	55.94	55.92	55.88	55.87	56.03
$\text{C-2}_{5\text{-FU}}$						149.54	149.47	149.53	149.45	149.63
$\text{C-4}_{5\text{-FU}}$						157.11	157.03	157.16	157.02	157.26
$\text{C-5}_{5\text{-FU}}$						140.38	141.68	138.80	140.29	140.45
$\text{C-6}_{5\text{-FU}}$						124.46	124.43	124.41	124.40	124.50

Tabla IV

Se puede apreciar en la tabla como el desplazamiento químico del C_3 varía en 18.51 ± 0.06 ppm, quedando más apantallado, al pasar de la función acetálica a una función hemiaminal debido al cambio del O por N, que al ser menos electronegativo provoca este apantallamiento, lo cual, además, nos permite verificar la unión del 5-FU a la molécula.

El resto de diferencias en los desplazamientos químicos entre los compuestos condensados y sin condensar, no son significativos, ya que estas variaciones en los desplazamientos se pueden interpretar como diferencia en los promedios de las poblaciones conformacionales entre las dos series de compuestos que no deben de ser iguales. Estas diferencias conformacionales distintas entre las series, son posiblemente inducidas por la existencia o no de los restos de 5-FU en la molécula.

**ENSAYOS
BIOLÓGICOS**

4.- ENSAYOS BIOLÓGICOS.

La determinación de la actividad antineoplásica de los derivados con 5-FU en su molécula se ha llevado a cabo sobre una línea de células tumorales HT-29 de cancer de colon humano que expresa el fenómeno de MDR (Multidrug resistance) y realizado en los laboratorios Knoll.

De esta forma hemos observado que para los compuestos **25** como representativo de la serie alifática y para los **28** y **29** de la serie aromática se obtienen los siguientes resultados de actividad antitumoral in vitro:

Compuesto	5-FU	25	28	29
IC ₅₀ (M)	1•10 ⁻⁵	7•10 ⁻⁶	9•10 ⁻⁶	8•10 ⁻⁶

Como se puede observar, estos compuestos presentan una actividad antineoplásica similar, pero algo superior, a la del compuesto tomado de referencia que es el 5-FU^{66,67}.

En otra serie de ensayos realizados en Módena (Italia), frente a la enzima timidilato sintetasa del *Lactobacillus casei*, al objeto de determinar las propiedades inhibitorias de estos compuestos, hemos podido observar que tanto para el representante de la serie alifática **25** a la concentración de 600 μ molar como para el de la serie aromática **28** a concentración de 119 μ molar no presentan actividades inhibitorias.

Estos dos hechos, la ausencia de actividad inhibitoria frente a la timidilato sintetasa, unidos al anterior ensayo, es decir, una actividad antitumoral levemente superior a la del 5-FU, justificaria un mecanismo de acción para estos compuestos diferente al del compuesto de referencia, el 5-fluorouracilo, pero confirman su actividad antitumoral, lo que anima a explorar la serie al objeto de mejorar su actividad.

**PARTE
EXPERIMENTAL**

5.- PARTE EXPERIMENTAL

5.1.- Consideraciones generales.

Los espectros IR han sido registrados en forma sólida, en disolución en KBr, en un espectrofrómetro Perkin-Elmer 782 adosado a una Estación de Datos modelo 3600. Se dan sólo las bandas de adsorción más características y sus posiciones se indican utilizando valores de números de onda $\bar{\nu}$ en cm^{-1} . La abreviatura f indica que la intensidad relativa es fuerte, la m, que es mediana y la d, es débil.

Los espectros de ^1H -RMN se han realizado en un aparato Bruker AM-300 (300.13 MHz). Los datos se expresan en desplazamientos químicos δ (ppm), respecto al TMS, tomado como referencia interna, en disoluciones deuteradas de cloroformo o DMSO. Las constantes de acoplamiento J se expresan en Hz

(ciclos por segundo). El aspecto y la multiplicidad de las señales se indica mediante las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; dd, doble doblete; t, triplete; dt, doble triplete; dc, doble cuádruplete y q, quintuplete.

Los espectros de ^{13}C -RMN se registraron también en disoluciones deuteradas de cloroformo y DMSO y con TMS, en un aparato Bruker AM-300 (75.78 MHz).

Los espectros de masas (EM) han sido registrados en un aparato Hewlett-Packard 5.988 A a 70 eV.

La cromatografía en columna se ha realizado sobre silicagel Merck 7734, empleando como eluyentes mezclas de metanol-cloroformo. La cromatografía en capa fina se ha llevado a cabo sobre cromatofolios AL de silicagel 60 F_{254} , realizándose la lectura bajo una lámpara de luz UV a 254 nm. En otras ocasiones se ha revelado utilizando vapores de H_2SO_4 caliente.

La cromatografía de media presión se ha realizado sobre silicagel Merck 60, utilizando una presión de 0.4 Kg/cm^2 y de eluyente mezclas de metanol-cloroformo.

5.2.- Materias primas.

5.2.1.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina 19.

En un matraz redondo provisto de agitador se ponen 4.7 mL de 3,3-dimetoxipropionato de metilo en 30 mL de etanol absoluto y se añaden 1.11 mL de etilendiamina.

Se deja en agitación 12 días a temperatura ambiente, al cabo de los cuales se concentra a un tercio de su volumen y se deja que precipite el

producto, se obtiene un sólido amarillento que se filtra. Se recogen 2.693g en tres precipitaciones. Rto: 55%.

El sólido se recristaliza en una mezcla de etanol y hexano caliente en proporción 0.5:15. p.f.=135-137°C.

IR (IR-1)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3301f, 2933m, 2836m, 1642f, 1565f, 1458m, 1430m, 1392m, 1378m, 1129f, 1062f.

¹H-RMN (¹H-RMN-1)(Cl₃CD, 300.13 MHz, δ(ppm), TMS): 6.67 (s, 2H, H₂); 4.67 (dd, 2H, J₃₋₂=5.3 Hz, H₃); 3.35 (s, 16H, H₄ y H₁); 2.5 (d, 4H, J₂₋₃=5.3 Hz, H₂).

¹³C-RMN (¹³C-RMN-1)(Cl₃CD, 75.78 MHz, δ(ppm)): 170 (C₁); 102.15 (C₃); 52,12 (C₄); 40.87 (C₂); 39.59 (C₁).

EM m/e (%).- 260 (<1), 245 (3), 229 (8), 197 (1), 171 (10), 159 (27), 127 (23), 85 (38), 75 (100), 58 (38).

Análisis elemental (C₁₂H₂₄N₂O₆)

Calculado: C:49.30%; H:8.27%; N:9.58%.

Encontrado: C:49.30%; H:8.28%; N:9.65%.

5.2.2.- Síntesis del N,N'-bis-(3;3-dietoxipropanoil)-etilendiamina 20.

En un matraz redondo de 50 mL provisto de agitador se ponen 7.1 mL de 3,3-dietoxipropionato de etilo en 30 mL de etanol absoluto, a continuación se añaden 1.11 mL de etilendiamina y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 11 días.

Al cabo de ese tiempo concentramos a un tercio de su volumen y dejamos que precipite el producto, se recoge un sólido amarillento de p.f.=135°C en tres precipitaciones. Rto: 11%

IR (IR-2)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm⁻¹): 3301m, 2976m, 1641f, 1556f, 1380m, 1199f, 1064m.

¹H-RMN (¹H-RMN-2)(Cl₃CD, 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 6.70 (s, 2H, H₂); 4.77 (dd, J₃₋₂=5.2 Hz, 2H, H₃); 3.64 (dc, 8H, J_{4'a-5}=7.0 Hz, J_{gem}=9.52 Hz, H_{4'a}); 3.49 (dc, 8H, J_{4'b-5}=7.0 Hz, J_{gem}=9.52 Hz, H_{4'b}); 3.32 (dd, J=2.6 Hz, 4H, H₁); 2.49 (d, 4H, J₂₋₃=5.2 Hz, H₂); 1.16 (dd, 6H, J₅₋₄=7.0 Hz, H₅).

¹³C-RMN (¹³C-RMN-2)(Cl₃CD, 75.78 MHz, δ (ppm)): 170.14 (C₁); 100.20 (C₃); 62.58 (C₄); 41.91 (C₂); 39.47 (C₁); 15.26 (C₅).

Análisis elemental (C₁₆H₃₂N₂O₆)

Calculado: C:55.15%; H:9.25%; N:8.03%.

Encontrado: C:54.60%; H:9.08%; N:8.57%

5.2.3.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,3-propanodiamina **21.**

En un matraz provisto de refrigerante y un agitador se pone una mezcla de 4.5 g de 3,3-dimetoxipropanoato de metilo, 1.019 g de 1,3-propanodiamina y una punta de espátula NH₄Cl en 30 mL de metanol.

Se mantiene a reflujo a 80°C durante 8 días, al cabo de los cuales se corta la reacción y se añade agua acidulada (1% HCl), se extrae con cloroformo, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra, p.f.=77°C. Rto: 25%

Se recristaliza en una mezcla de etanol absoluto y hexano caliente en proporción 0.5:15

IR (IR-3)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3308m, 2944m, 2838m, 1652f, 1554f, 1444m, 1373m, 1121f, 1064f.

$^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-3}$)(Cl_3CD , 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 6.71 (t ancho, 2H, H_2); 4.72 (dd, 2H, $J_{3,2}=5.4$ Hz, H_3); 3.38 (s, 12H, H_4); 3.28 (dt, 4H, $J_{2,1}=6.0$ Hz, H_2); 2.54 (d, 4H, $J_{2,3}=5.4$ Hz, H_2); 1.63 (q, 2H, $J_{1,2}=6.0$ Hz, H_1).

$^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-3}$)(Cl_3CD , 75.78 MHz, δ (ppm)): 169.67 (C_1); 102.25 (C_3); 54.02 (C_4); 40.98 (C_2); 35.99 (C_2); 29.65 (C_1).

Análisis elemental ($\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6$)

Calculado: C:50.96%; H:8.55%; N:9.14%.

Encontrado: C:50.76%; H:8.33%; N:8.91%.

5.2.4.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-butanodiamina **22.**

En un matraz provisto de agitador y refrigerante se pone una mezcla de 4.5g de 3,3-dimetoxipropanoato de metilo, 1,21g de 1,4-butanodiamina y una punta de espátula de NH_4Cl , disuelta en 30 mL de metanol.

Se calienta a reflujo durante 12 días, al cabo de los cuales se corta la reacción, se concentra y aparece un sólido que pesa 1.474g, p.f.=121-126°C, Rto=33%.

Se recristaliza en una mezcla de etanol absoluto y hexano caliente en relación 0.5:15.

IR (IR-4)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3299f, 2942f, 2834m, 1642f, 1565f, 1469m, 1430m, 1385m, 1336m, 1125f, 1068f.

$^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-4}$)(Cl_3CD , 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 6.41 (t ancho, 2H, H_2); 4.65 (dd, 2H, $J_{3,2}=5.3$ Hz, H_3); 3.33 (s, 12H, H_4); 3.21 (dt, 4H, H_2); 2.47 (d, 4H, $J_{2,3}=5.3$ Hz, H_2); 1.48 (q, 4H, $J_{1,2}=3.2$ Hz, H_1).

$^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-4}$)(Cl_3CD , 75.78 MHz, δ (ppm)): 169.18 (C_1); 102.26 (C_3); 54.10 (C_4); 40.91 (C_2); 38.97 (C_2); 26.78 (C_1).

Análisis elemental ($\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$)

Calculado: C:52.48%; H:8.81%; N:8.74%.

Encontrado: C:52.47%; H:8.91%; N:8.86%.

5.2.5.- Síntesis del N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminometaxileno **23**.

En un matraz provisto de agitador y refrigerante se pone a reflujo una mezcla de 4.5 g de 3,3-dimetoxipropanoato de metilo, 1.87 g de α,α' -diaminometaxileno y 0.5 g de NH_4Cl pulverizado.

Se mantiene a reflujo 3 horas, se deja enfriar y se añade agua acidulada con unas gotas de HCl.

El agua se extrae con 7 fracciones de 20 mL de cloroformo, se seca sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentra, aparece un sólido que se filtra.

Peso=2.660 g, p.f.=120°C Rto: 53.7%

Se recristaliza en hexano caliente.

IR (IR-5)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3303f, 2936m, 2836m, 1647f, 1558,

1437m, 1426m, 1392m, 1379m, 1124f, 1061f, 831m, 793d, 767d.

¹H-RMN (¹H-RMN-5)(Cl₃CD, 300.13 MHz, δ(ppm), TMS): 7.27 (dd, 1H, J_{b-c}=7.2 Hz, H_c); 7.15 (d, 2H, J_{b-c}=7.1 Hz, H_b); 7.14 (s, 1H, H_a); 6.71 (t ancho, 2H, H₂); 4.71 (dd, 2H, J₃₋₂=5.3 Hz, H₃); 4.38 (d, 4H, J₁₋₂=5.8 Hz, H₁); 3.36 (s, 12H, H₄); 2.55 (d, 4H, J₂₋₃=5.3 Hz, H₂).

¹³C-RMN (¹³C-RMN-5)(Cl₃CD, 75.78 MHz, δ(ppm)): 169.09 (C₁); 138.85 (C_d); 128.92 (C_c); 126.62 (C_a); 126.43 (C_b); 102.26 (C₃); 54.10 (C₄); 43.20 (C₁); 40.90 (C₂).

EM m/e (%).- 336 (1), 303 (58), 272 (14), 219, (24), 218 (3), 204 (11), 133 (12), 117 (11), 105 (24), 85 (24) 75 (100).

Análisis elemental (C₁₈H₂₈N₂O₆)

Calculado: C:58.68%; H:7.66%; N:7.60%.

Encontrado: C:58.24%; H: 7.64%; N:7.49%.

5.2.6.- Síntesis de N,N'-bis-(dimetoxipropanoil)-α,α'-diaminoparaxileno **24.**

En un matraz con refrigerante se ponen 4.8 mL de 3,3-dimetoxipropanoato de metilo en 25 mL de metanol absoluto y se añaden 2.297g de α,α'-diaminoparaxileno.

La mezcla se calienta a 80°C durante 10 días, al cabo de los cuales se evapora el metanol, aparece un masa sólida en el matraz que se suspende en etanol de 96°, se filtra y se lava con éter. Peso=3.044g, p.f.=148-149°C, Rto: 49%.

El sólido se recristaliza en Etanol absoluto caliente dando agujas cristalinas blancas de p.f.=147-148°C.

IR (IR-6)(disolución KBr).- $\tilde{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3301f, 2931m, 2836m, 1634f, 1461m, 1442m, 1427m, 1398m, 1378m, 1360m, 1126f, 1058f, 830m, 785d.

¹H-RMN (¹H-RMN-6)(Cl₃CD, 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 7.25 (s, 4H, H_b); 6.56 (t ancho, 2H, H₂); 4.73 (dd, 2H, J_{2,2}=5.3 Hz, H₃); 4.43 (d, 4H, J_{1,2}=5.8 Hz, H₁); 3.4 (s, 12H, H₄); 2.59 (d, 4H, J_{2,3}=5.3 Hz, H₂).

¹³C-RMN (¹³C-RMN-6)(Cl₃CD, 75.78 MHz, δ (ppm)): 169.03 (C₁); 137.60 (C_a); 127.85 (C_b); 102.28 (C₃); 54.18 (C₄); 43.10 (C₁); 41.0 (C₂).

Análisis elemental (C₁₈H₂₈N₂O₆)

Calculado: C:58.68%; H:7.65%; N:7.63%.

Encontrado: C:58.66%; H:7.64%; N:7.57%.

5.3.- Condensados con 5-fluorouracilo.

5.3.1.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina 25.

En un matraz provisto de agitador y un embudo de adición se coloca una suspensión de 0.500 g de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina en 20 mL de acetonitrilo recién destilado sobre P₂O₅ y se le añaden 0.555 g de 5-fluorouracilo, 0.68 mL de hexametildisilazano (HMDS) y 0.46 mL de Trimetilclorosilano (TCS). A esta suspensión en agitación, se le adiciona lentamente una solución de 0.80 mL de SnCl₄ en 3 mL de acetonitrilo.

Se deja agitando durante 20 horas, al cabo de este tiempo se corta la agitación, se neutraliza con NaHCO_3 al 4% hasta pH levemente básico.

Se filtra y el filtrado se concentra y se purifica por cromatografía preparativa en columna tipo flash en las siguientes condiciones:

Diámetro de la columna: 4.5 cm.

Altura de la columna de sílica: 15 cm.

Eluyente: metanol/cloroformo 1:12.

Se aíslan cinco fracciones, de las cuales se identifica la última por sus propiedades espectroscópicas como N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]etilendiamina **25**. Peso=0.350 g. Rto: 42%.

IR (IR-7)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 3352f, 3078f, 2841m, 1740f, 1652f, 1554f, 1237f, 1081f, 1077f.

$^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-7}$)(DMSO- d_6 , 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 7.93 (s, 2H, H_2); 7.87 (d, 2H, $J_{\text{H-F}}=6.8$ Hz, $\text{H}_{5\text{-FU}}$); 5.77 (dd ancho, 2H, $J_{3\text{-}2}=5.7$ Hz, H_3); 3.19 (s, 6H, H_4); 3.01 (s ancho, 4H, H_1); 2.64 (dd, 2H, $J_{2\text{a-}3}=7.3$ Hz, $J_{\text{gem}}=14.8$, $\text{H}_{2\text{a}}$); 2.52 (dd, 2H, $J_{2\text{b-}3}=5.5$ Hz, $J_{\text{gem}}=14.8$ Hz, $\text{H}_{2\text{b}}$).

$^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-7}$)(DMSO- d_6 , 75.78 MHz, δ (ppm)): 167.35 (C_1); 157.11 (d, $J=26.5$ Hz, C_4 5-FU); 149.54 (C_2 5-FU); 140.38 (d, $J=231.8$ Hz, C_5 5-FU); 124.46 (d, $J=33.3$ HZ, C_6 5-FU); 83.70 (C_3); 55.94 (C_4); 40.12 (C_2); 38.11 (C_1).

EM m/e (%).- 358 (<1), 343 (<1), 315 (<1), 257 (<1), 215 (<1), 173 (2), 130 (76), 127 (24), 100 (1), 84 (100).

Análisis elemental (C₁₈H₂₂F₂N₆O₈•2.4 H₂O•1.2 MeOH)

Calculado: C:40.45%; H:5.58%; N:14.74%.

Encontrado: C:40.55%; H:4.84%; N:14.17%

5.3.2.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,3-propanodiamina 26.

En un matraz provisto de agitador y embudo de adición, todo ello totalmente seco, se colocan 0.5g (1.53 mmol) de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,3-diaminopropano en 30 mL de acetonitrilo, recién destilado sobre P₂O₅ y se añaden 0.397g de 5-fluorouracilo, 0.617g de hexametildisilazano y 0.414g de trimetilclorosilano.

Se le adiciona lentamente una solución de 0.998g de SnCl₄ en 10 mL de acetonitrilo también recién destilado.

Se deja agitando durante 21 horas, se corta la agitación y se neutraliza con NaHCO₃ al 4% hasta pH levemente básico.

Se filtra y se lava con acetonitrilo.

El filtrado se concentra y se purifica por cromatografía preparativa en columna tipo flash en las siguientes condiciones:

Diámetro de la columna: 3 cm.

Eluyente: metanol/cloroformo 1:12.

Altura de la columna de sílica: 15 cm.

Se aíslan cinco fracciones y se identifica la última como el producto por sus propiedades espectroscópicas y se corresponde con N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,3-diaminopropano 26. Peso=0.310 g
Rto: 37.8%.

IR (IR-8)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 3355m, 3073m, 2932m, 1715f, 1669f, 1550m, 1469m, 1259m, 1078m.

$^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-8}$)(DMSO- d_6 , 300.13 MHz, $\delta(\text{ppm})$, TMS.): 11.7 (s, 2H, $\text{NH}_{5\text{-FU}}$); 7.87 (d, 2H, $J_{\text{H-F}}=6.7$ Hz, $\text{H}_{5\text{-FU}}$); 5.78 (dd, 2H, $J_{3\text{-}2}=5.7$ Hz, H_3); 3.20 (s, 6H, H_4); 3.00 (dt, 4H, $J_{2\text{-}1}=6.5$ Hz, $J_{2\text{-}3}=3.4$ Hz, H_2); 2.66 (dd, 2H, $J_{2\text{-}3}=7.3$ Hz, $J_{\text{gem}}=14.5$ Hz, $\text{H}_{2\text{a}}$); 2.54 (dd, 2H, $J_{2\text{b-}3}=5.3$ Hz, $J_{\text{gem}}=14.5$ Hz, $\text{H}_{2\text{b}}$); 1.45 (q, 2H, $J_{1\text{-}2}=6.7$, H_1).

$^{13}\text{C-RMN}$ ($^{13}\text{C-RMN-8}$)(DMSO- d_6 , 75.78 MHz, $\delta(\text{ppm})$): 167.06 (C_1); 157.05 (d, $J=25.9$ Hz, C_4 5-FU); 149.47 (C_2 5-FU); 141.68 (C_5 5-FU); 124.43 (d, $J=32.3$ Hz, C_6 5-FU); 83.76 (C_3); 55.92 (C_4); 40.12 (C_2); 36.22 (C_2); 28.97 (C_1).

Análisis elemental ($\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_8 \cdot 0.4 \text{Cl}_3\text{CH}$)

Calculado: C:42.35%; H:4.47%; N:15.27%.

Encontrado: C:42.58%; H:4.82%; N:14.18%

5.3.3.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina 27.

En un matraz provisto de agitador y embudo de adición, totalmente seco, se colocan 0,5g (1,56 mmol) de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-diaminobutano en 40 mL de acetonitrilo recién destilado y se añaden 0,508g de 5-fluorouracilo, 0,630g de hexametildisilazano y 0,424g de trimetilclorosilano.

Se deja agitando durante 15 minutos, tras los cuales se le adiciona lentamente una solución de 0,407g de SnCl_4 en 6 mL de acetonitrilo.

Se deja agitando durante 23 horas, se corta la agitación y se neutraliza con NaHCO_3 al 4% hasta pH levemente básico.

Se lleva a sequedad y se purifica por cromatografía preparativa en columna tipo flash en las siguientes condiciones:

Diámetro de la columna: 4 cm.

Eluyente: metanoi/cloroformo 1:10.

Altura de la columna de sílica: 15 cm.

Se aíslan tres fracciones y se identifica el producto de la tercera por sus propiedades espectroscópicas que se corresponde con N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,4-diaminobutano **27**. Peso= 0.384 g.
Rto: 48%.

IR (IR-9)(Disolución KBr). - $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3088m, 2948m, 1696f, 1653f, 1521f, 1393m, 1354m, 1218f, 1086f.

¹H-RMN (¹H-RMN-9)(DMSO-d₆, 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 7.89 (t ancho, 2H, H₂); 7.84 (d, 2H, J_{H-F}=6.6 Hz, H_{5-FU}); 5.77 (dd, 2H, H₃); 3.19 (s, 6H, H₄); 2.98 (s ancho, 4H, H₂); 2.64 (dd, 2H, J_{2'a-3'}=7.4 Hz, J_{gem}=14.3 Hz, H_{2'a}); 2.52 (dd, 2H, J_{2'b-3'}=5.5 Hz, J_{gem}=14.3 Hz, H_{2'b}); 1.30 (s ancho, 4H, H₁).

¹³C-RMN (¹³C-RMN-9)(DMSO-d₆, 75.78 MHz, δ (ppm)): 166.94 (C₁); 157.16 (d, J=26.2 Hz, C₄ 5-FU); 149.53 (C₂ 5-FU); 138.80 (C₅ 5-FU); 124.41 (d, J=33.7, C₆ 5-FU); 83.72 (C₃); 55.88 (C₄); 40.10 (C₂); 38.01 (C₂); 26.27 (C₁).

Análisis elemental (C₂₀H₂₆F₂N₆O₈ • 0.8 H₂O)

Calculado: C:45.25%; H:5.24%; N:15.83%.

Encontrado: C:45.74%; H:5.26%; N:14.98%.

5.3.4.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α,α' - diaminometaxileno 28.

En un matraz provisto de agitador y embudo de adición se colocan 0.5g (1.35 mmol) de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α,α' -diaminometaxileno en 30 mL de acetonitrilo y se añaden 0.44g (3.38mmol) de 5-fluorouracilo, 0.54 mL de hexametildisilazano y 0.42 mL de trimetilclorosilano.

Se le adiciona lentamente durante 45 minutos una solución de 0.39mL de SnCl₄ en 10 mL de acetonitrilo.

Se deja agitando durante 28 horas, se corta la agitación y se neutraliza con NaHCO₃ al 4% hasta pH levemente básico.

Se lleva a sequedad y se suspende en acetonitrilo, se filtra y se lava con metanol/cloroformo 1:3.

El filtrado se concentra y se purifica por cromatografía preparativa en columna tipo flash en las siguientes condiciones:

Diámetro de la columna: 3.5 cm.

Eluyente: metanol/cloroformo 1:12.

Altura de la columna de sílica: 15 cm.

Se recogen cinco fracciones. La cuarta se identifica por sus propiedades espectroscópicas correspondiéndose con N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminometaxileno 28. Peso=0.346 g. Rto: 45.4%.

IR (IR-10)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 3336m, 1714f, 1669f, 1550m, 1434m, 1382m, 1353m, 1258m, 865d, 765d.

¹H-RMN (¹H-RM -10)(DMSO-d₆, 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 11.7 (s, 2H, NH_{5-FU}); 8.43 (dd, 2H, J₂₋₁=5.7 Hz, H₂); 7.88 (d, 2H, J_{H-F}=6.7 Hz, H_{5-FU}); 7.21 (dd, 1H, J_{c-b}=7.6 Hz, H_c); 7.06 (s, 1H, H_a); 7.05 (d, 2H, J_{b-c}=7.5 Hz, H_b); 5.83 (dd, 2H,

$J_{3,2}=5.7$ Hz, H_3); 4.25 (dd, 2H, $J_{1a,2}=5.7$ Hz, $J_{gem}=15.5$ Hz, H_{1a}); 4.18 (dd, 2H, $J_{1b,2}=5.4$ Hz, $J_{gem}=15.5$ Hz, H_{1b}); 3.22 (s, 4H, H_4); 2.75 (dd, 2H, $J_{2a,3}=7.2$ Hz, $J_{gem}=14.6$ Hz, H_{2a}); 2.64 (dd, 2H, $J_{2b,3}=5.7$ Hz, $J_{gem}=14.6$ Hz, H_{2b}).

^{13}C -RMN (^{13}C -RMN-10)(DMSO- d_6 , 75.78 MHz, δ (ppm)): 167.07 (C_1); 157.02 (d, $J=26.1$ Hz, C_4 5-FU); 149.45 (C_2 5-FU); 140.29 (d, $J=232.6$ Hz, C_5 5-FU); 139.09 (C_d); 128.11 (C_c); 125.99 (C_a); 125.40 (C_b); 124.40 (d, $J=33.4$ Hz, C_6 5-FU); 83.65 (C_3); 55.87 (C_4); 41.88 (C_2); 39.96 (C_1).

Análisis elemental ($C_{24}H_{26}F_2N_6O_8 \cdot 0.9 Cl_3CH$)

Calculado: C:44.51%; H:4.04%; N:12.51%.

Encontrado: C:44.65%; H:4.19%; N:12.34%.

5.3.5.- Síntesis del N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α, α' -diaminoparaxileno 29.

En un matraz provisto de agitador y embudo de adición se colocan 0.5g (1,35 mmol) de N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α, α' -diaminoparaxileno en 30 mL de acetonitrilo y se añaden 0.44g (3,38mmol) de 5-fluorouracilo, 0.7 mL de hexametildisilazano y 0.42 mL de trimetilclorosilano.

Se le adiciona lentamente durante 25 minutos una solución de 0.881g de $SnCl_4$ (0.39 mL) en 10 mL de acetonitrilo.

Se deja agitando durante 21 horas, se corta la agitación y se neutraliza con $NaHCO_3$ al 4% hasta pH levemente básico.

Se lleva a sequedad y se suspende en acetonitrilo, se filtra y se lava con metanol/cloroformo 1:3.

El filtrado se concentra y se purifica por cromatografía preparativa en

columna tipo flash en las siguientes condiciones:

Diámetro de la columna: 3.5 cm.

Eluyente: metanol/cloroformo 1:10.

Altura de la columna de sílica: 15 cm.

Se recogen dos fracciones y se identifica la segunda por sus propiedades espectroscópicas como N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α, α' -diaminoparaxileno **29**. Peso=0.118 g. Rto: 59%.

IR (IR-11)(Disolución KBr).- $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3322m, 3072m, 1715f, 1669f, 1662f, 1550m, 1258m, 750m.

$^1\text{H-RMN}$ ($^1\text{H-RMN-11}$)(DMSO- d_6 , 300.13 MHz, δ (ppm), TMS): 8.42 (t ancho, 2H, H_2); 7.85 (d, 2H, $J_{\text{H-F}}=6.6$ Hz, $H_{5\text{-FU}}$); 7.11 (s, 4H, H_b); 5.81 (dd, 2H, $J_{3-2}=5.7$ Hz, H_3); 4.23 (dd, 2H, $J_{1a-2}=5.9$ Hz, $J_{\text{gem}}=15.3$ Hz, H_{1a}); 4.16 (dd, 2H, $J_{1b-2}=5.7$ Hz, $J_{\text{gem}}=15.3$ Hz, H_{1b}); 3.21 (s, 6H, H_4); 2.73 (dd, 2H, $J_{2a-3}=7.1$ Hz, $J_{\text{gem}}=14.5$ Hz, H_{2a}); 2.62 (dd, 2H, $J_{2b-3}=5.7$ Hz, $J_{\text{gem}}=14.5$ Hz, H_{2b}).

$^{13}\text{C-RMN}$ (DMSO- d_6 , 75.78 MHz, δ (ppm)): 167.29 (C_1); 157.26 (d, $J=26.2$ Hz, C_4 5-FU); 149.63(C_2 5-FU); 140.45 (d, $J=232.2$ Hz, C_5 5-FU); 137.72 (C_a); 127.13 (C_b); 124.50 (d, $J=33.4$ Hz, C_6 5-FU); 83.78 (C_3); 56.03 (C_4); 41.84 (C_1); 40.12 (C_2).

Análisis elemental ($\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_8 \cdot 1.5 \text{ MeOH}$)

Calculado: C:49.99%; H:5.26%; N:13.71%.

Encontrado: C:49.88%; H:4.91%; N:13.09%.

CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES.

- 1.- Se han sintetizado y caracterizado espectroscópicamente los compuestos de carácter bisacetálicos **19-24**, intentando optimizar las condiciones para mejorar el rendimiento de la obtención.
- 2.- Se han sintetizado y caracterizado espectroscópicamente los derivados **25-29** por reacción de los anteriores sustratos (**19, 21-24**) con el 5-FU. En ningún caso se han aislado los posibles estereoisómeros obtenidos en cada reacción.
- 3.- Se han ensayado las actividades antitumorales de los derivados **25, 28 y 29**, encontrándose que presentan una actividad levemente superior a la del propio 5-FU frente a células HT-29 de cáncer de colon humano.
- 4.- En otros estudios biológicos realizados se ha podido comprobar que el mecanismo de acción de los derivados **25 y 28** no es similar al del compuesto de referencia, puesto que no inhibe la enzima timidilato sintetasa para ejercer su efecto antitumoral.

BIBLIOGRAFÍA

7.- BIBLIOGRAFÍA

- 1) ELION, G. B.
J. AM. Sol. , **74**, 411 (1952).
- 2) HEIDELBERGER, C.; CHAUDHARI, N.; DANNEBERG, P.; MOREN, D. Y GRIESBACK, L.
Nature , **179**, 663 (1952).
- 3) DUCHINSKY, R. y PLEVEN, E.
J. Am. Chem. Soc. , **79**, 4559 (1957).
- 4) HEIDELBERGER, C. y DUCHINSKY, R.
Patente dei 5-fuoro-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona. (Ro 2-9757).
USA pats. 2.802.005, **1957** y 2.885.396, **1959**.
- 5) RUDY, B. C. y SENKOWSKI, B. Z.
Analytical Profiles of Drug Substances.
Ed. K. Flor. y. Academic Press. (New York), **2**, 221 1973.

- 6) HEIDELBERGER, G.
Cancer medicine (2ª Ed). J. F. Holland y Frei, E. Eds. 801
Lea & Febiger, (Philadelphia), 1982.
- 7) DOUGLAS, K. T.
Medicinal Research Reviews., 7, 441 (1987).
- 8) PERRY, M. y YARBRO, J. W.
Toxicity of Chemotherapy.
Grune & Stvaton Inc. (New York), 1984.
- 9) HILLER, S. A.; ZHUK, R. A.; LIDAK, M. YU y ZIDERMANE, A. A.
Patente del N-(2'-furamidil)-5-fluorouracilo (FT 207).
Brit. pat. 1.168.391, 1969 y Fr. pat. 1.574.684, 1969.
- 10) IWASAKI, T.; NISHITANI, T.; HORIKAWA, H. y INOUE, I.
Tetrahedron Let. , 22, 2019 (1979).
- 11) COOK, A. F.
Patente del 1-(-D-5'-desoxirribofuranosil)-5-fluorouracilo (Ro 21-9738).
USA pat. 4.071.680, 1978.
- 12) HARNEN, M. R. y BAILEY, S.
Eur. pat. 49.144 (C1 COZD239/54). 1982 y GB. pat.80/31.721. 1980.
- 13) OCHI, K.; MIYAMOTO, K.; MIURA, H.; MATSUNAGA, I. y
SHINDO, M.
Chem. Pharm. Bull. , 33, 1703 (1985).

- 14) MIYOSHI, M.; NISHITANI, T.; IWASAKI, T. y MUSHIKA, Y.
J. Org. Chem. , **44**, 2019 (1979).
- 15) PINEDA DE LAS INFANTAS, M. J.
Tesis doctoral, Universidad de Granada, 1994.
- 16) SALVADORI, S.; MARASTONI, M.; BALBONI, G.; SARTO, G. P. Y
TOMATIS, R.
J. Med. Chem. , **29**, 889 (1986).
- 17) MARASTONI, M.; SALVADORI, S.; BALBONI, G.; BOREA, P. A.;
MARLOZA, G. y TOMATIS, R.
J. Med. Chem., **30**, 1538 (1987).
- 18) HORWELL, C.; BIRCHMORE, B.; BODEN, P. R.; HIGGINBOTTOM,
M.; PING HO, Y.; HUGHES, J.; HUNTER, J. C. y RICHARDSON, S.
Eur. J. Med. Chem., **25**, 53 (1990).
- 19) RONSISVALLE, G.; PAPPALARDO, M. S.; PASQUINUCCI, L.;
VITTORIO, F.; SALVADORI, S.; SPAMPINATO, S.; CAVICCHINI, E.
y FERRI, S.
Eur. J. Med. Chem., **25**, 29 (1990).
- 20) WILLIAMS, B. J.; CURTIS, N. R.; McKNIGHT, T.; MAGUIRE, J. J.;
YOUNG, S. C.; VEBER, D. F. y BAKER, R.
J. Med. Chem., **36**, 2 (1993).
- 21) WINDRIDGE, G. C.; JORGENSEN, E. C.
J. Am. Chem. Soc., **93**, 6318 (1971).

- 22) HORIKI, K.
Tetrahedron Let., **45**, 4103 (1976).
- 23) BARSTOW, L. E. y HRUBY, V. J.
J. Org. Chem., **36**, 1305 (1971)
- 24) LIU, L. K.; HSIEH, T, y KUO, S.
Synthesis, 309 (1994).
- 25) MELCHIORRE, C.; CASSINELLI, A. y QUAGLIA, W.
J. Med. Chem., **30**, 201 (1987).
- 26) HERBEST, R. M. y SHEMIN, D.
Org. Syn. Coll., **2**, 11 (1943).
- 27) WILEY, R. H. y BORUM, O. H.
Org. Syn. Coll., **4**, 5 (1963).
- 28) AHMAD, S. y IQBAL, J.
J. Chem. Soc., Chem. Commun., **2**, 114 (1987).
- 29) ISRAEL, M.; ZOLL, E. C.; MUHAMMAD, N. y MODEST, E. J.
J. Med. Chem., **16**, 1 (1973).
- 30) MINARINI, A., BUDRIESI, R.; CHIARINI, A.; MELCHIORRE, C. y TUMIATTI, V.
Il Farmaco, **46**(10), 1167 (1991).
- 31) DE FEOAND, R. J. y STRICKLER, P. D.
J. Org. Chem., **28**, 2915 (1963).

- 32) YAZAWA, H.; TANAKA, K. y KARIYONE, K.
Tetrahedron Let., **46**, 3995 (1974).
- 33) BASHA, A.; LIPTON, M. y WEINREB, S. M.
Tetrahedron Let., **48**, 4171 (1977).
- 34) ANTOLOVICH, M.; PHILLIPS, D. J. y RAE, A. D.
Inorg. Chim. Acta, **156**, 189 (1989).
- 35) WHEELER, H. L y MERRIAM, H. F.
J. Am Chem. Soc., **29**, 478 (1903).
- 36) DORNOW, A.; BOBERG, F. y SCHÜRER, L.
Arch. Pharm., **286**, 494 (1953).
- 37) NISHITANI, T.; IWASAKI, T.; MUSHIKA, Y.; INONE, I. y MIYOSHI, M.
Chem. Pharm. Bull., **28**, 1137 (1980).
- 38) RENXI, Z.; CHANGLIE, F. y RULIN, Z.
Youji Huaxue, **2**, 121 (1986). C.A., **105**, 799, 173025b (1986).
- 39) RENXI, Z.; CHANGLIE, F. y RULIN, Z.
Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao, **7**, 508 (1986). C.A., **107**, 730, 97081r (1987).
- 40) RENXI, Z.; GAOWEI y PUPING, P.
Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao, **4**, 555 (1991). C.A., **116**, 615, 21442z (1992).

- 41) HILLER, S. A.; ZHUK, R. A. y LIDAK, M.
Dokl. Akad. Nank (USSR), **176**, 332 (1967).
- 42) EARL, R. A. y TOWNSEND, L. B.
J. Heterocycl. Chem., **9**, 1141 (1972).
- 43) KAMETANI, T.; KIGASAWA, K.; HIIRAGI, M.; WAKISAKA, K.;
KUSAMA, O.; KAWASAKI, K. y SUGI, H.
J. Heterocycl. Chem., **14**, 473 (1977).
- 44) KAMETANI, T.; KIGASAWA, K.; HIIRAGI, M.; WAKISAKA, K.; HAGA,
S.; NAGAMATSU, Y.; SUGI, H.; FUKAWA, K.; IRINO, O.;
YAMAMOTO, T.; NISHIMURA, N.; TAGUCHI, A.; OKADA, T. y
NAKAYAMA, M.
J. Med. Chem., **23**, 1324 (1980).
- 45) YASUMOTO, M.; YAMAWAKI, I.; MARUNAKA, T. y HASHIMOTO, S.
J. Med. Chem., **21**, 738 (1978).
- 46) NOMURA, H.; YOSHIOKA, Y. y MINAMI, I.
Chem. Pharm. Bull., **27**, 899 (1979).
- 47) JENG LIN, A.; BENJAMIN, R. S.; RAO, P. N. y LOO, T. L.
J. Med. Chem., **22**, 1096 (1979).
- 48) VORBRÜGGEN, H. y BENNUA, B.
Tetrahedron Lett., **15**, 1339 (1978).
- 49) IWASAKI, T.; NISHITANI, T.; HORIKAWA, H. y INOUE, I.
Tetrahedron Lett., **22**, 1029 (1981).

- 50) LEE, H. J.; SHIN, H. S.; JIN, H. S. KIM, J. H. y KIM, C. K.
Yakhak Hoechi, **37**, 89 (1993). C.A., **121**, 821, 57203q (1994).
- 51) KIM, J. C.; DONG, E.; KIM, J.; KIM, S.; PARK, J. Y KIM, S. H.
Korean J. Med. Chem., **4**, 111 (1994). C.A., **122**, 1103, 214417c (1995).
- 52) RENXI, Z. y NIANEN, Z.
Wuhan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, **1**, 65 (1986). C.A., **106**, 724, 176329k (1987).
- 53) RENXI, Z.; CHANGLIE, F.; JUN, L. y QI, S.
Youji Huaxue, **10**, 513 (1990). C.A., **114**, 788, 122270f (1991).
- 54) QIQI, C.; XIANGDONG, L.; DAXIAN, S. y KADI, W.
Zhongguo Yaowu Haxue Zazhi, **3**, 163 (1993). C.A., **122**, 907, 31181b (1995).
- 55) RENXI, Z.; QUSHENG, C.; GAOWEI, L.; ZHENHUA, L. y XUAN, W.
Gaofenzi Tongxun, **1**, 11 (1984). C.A., **100**, 27, 203210z (1984).
- 56) RENXI, Z.; QUSHENG, C.; GAOWEI, L.; XUAN, W.; FANBO, Z.; XINDE, T. y YANSHEN, C.
Ch. pat. CN 85.100.233, **1986**. C.A., **107**, 85, 229146c (1987).
- 57) RENXI, Z.; QUSHENG, C.; GAOWEI, L.; ZHENHUA, L.; XUAN, W. y XILIANG, L.
Wuhan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, **3**, 114 (1983). C.A., **101**, 8, 38949h (1984).

- 58) QUSHENG, C.; CHANGLIE, F. y WEIDONG, H.
Wuhan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, **4**, 96 (1987). C.A., **110**, 58218h (1989).
- 59) YI, L.; REN-XI, Z. y CHANG-LIE, F.
Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao, **15**, 932 (1994). C.A., **121**, 545, 238299w (1994).
- 60) YI, L.; RENXI, Z. y CHANGLIE, F.
Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi, **25**, 267 (1994). C.A., **122**, 581, 64135t (1995).
- 61) YI, L.; REN-XI, Z. y CHANG-LIE, F.
Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao, **15**, 767 (1994). C.A., **122**, 35, 122613k (1995).
- 62) QUSHENG, C.; RENXI, Z. y NIANEN, Z.
Gaofenzi Xuebao, **3**, 217 (1987). C.A., **108**, 15, 15781c (1988).
- 63) QUSHENG, C. y WEIDONG, H.
Wuhan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban, **3**, 89 (1987). C.A., **109**, 130361h (1988).
- 64) FURNISS, B. S.; HANNAFORD, A. J.; SMITH, P. W. G. y TATCHELL, A. R.
Vogel's textbook of practical organic chemistry, 5ª Ed, Longman Scientific & Technical (1989).

- 65) OZAKI, S.; WATANABE, Y., HOSHIKO, T.; NAGASE, T.; OGASAWARA, T.; FURUKAWA, H.; LLEMURA, A.; ISHIKAWI, K.; MORI, H.; HOSHI, A.; IIGOM, M. y TOKUZEN, R.
Chem. Pharm. Bull., **34** (1), 150 (1986).
- 66) ESPINOSA, A.; GALLO, M. A.; DOMÍNGUEZ, J. F.; y CORREA, A.
Comunicación O-QF-07 en el "V Congreso de Ciencias Farmacéuticas", Alcalá de Henares, 15-18 de Noviembre de 1995.
- 67) ESPINOSA, A.; GALLO, M. A.; CAMPOS, J.; DOMÍNGUEZ, J. F.; GÓMEZ, J. A.; CORREA, A.
Comunicación ML8 en el "II Congreso Conjunto Italiano-Español de Química Terapéutica", Ferrara (Italia), 30 Agosto-3 Septiembre, 1995.

APÉNDICE

Relación de los espectros de las sustancias estudiadas en esta memoria.

NOMBRE	ESPECTROS	Página
N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-etilendiamina	^1H -RMN-1	32
	^{13}C -RMN-1	33
	CORR-1	34
	IR-1	35
	EM-1	36
N,N'-bis-(3,3-dietoxipropanoil)-etilendiamina	^1H -RMN-2	40
	^{13}C -RMN-2	41
	IR-2	42
N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,3-propanodiamina	^1H -RMN-3	45
	^{13}C -RMN-3	46
	IR-3	47
N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)-1,4-butanodiamina	^1H -RMN-4	49
	^{13}C -RMN-4	50
	IR-4	51
N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α, α' -diaminometaxileno	^1H -RMN-5	56
	^{13}C -RMN-5	57
	IR-5	58
	EM-2	59
N,N'-bis-(3,3-dimetoxipropanoil)- α, α' -diaminoparaxileno	^1H -RMN-6	62
	^{13}C -RMN-6	63
	IR-6	64

NOMBRE	ESPECTROS	Página
N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-etilendiamina	¹ H-RMN-7	71
	¹³ C-RMN-7	72
	IR-7	73
	EM-3	74
N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,3-propanodiamina	¹ H-RMN-8	76
	¹³ C-RMN-8	77
	IR-8	78
N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]-1,4-butanodiamina	¹ H-RMN-9	80
	¹³ C-RMN-9	81
	IR-9	82
N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminometaxileno	¹ H-RMN-10	84
	¹³ C-RMN-10	85
	IR-10	86
N,N'-bis-[3-(5-fluorouracil-1-il)-3-metoxipropanoil]- α,α' -diaminoparaxileno	¹ H-RMN-11	89
	¹³ C-RMN-11	90
	IR-11	91

Datos de los espectros de ^1H -RMN.

NÚMERO	DISOLVENTE	REF. INTERNA	SUSTANCIA
1	Cl_3CD	TMS	<u>19</u>
2	Cl_3CD	TMS	<u>20</u>
3	Cl_3CD	TMS	<u>21</u>
4	Cl_3CD	TMS	<u>22</u>
5	Cl_3CD	TMS	<u>23</u>
6	Cl_3CD	TMS	<u>24</u>
7	DMSO-d_e	TMS	<u>25</u>
8	DMSO-d_6	TMS	<u>26</u>
9	DMSO-d_6	TMS	<u>27</u>
10	DMSO-d_6	TMS	<u>28</u>
11	DMSO-d_6	TMS	<u>29</u>

Datos de los espectros de ^{13}C -RMN.

NÚMERO	DISOLVENTE	REF. INTERNA	SUSTANCIA
1	Cl_3CD	TMS	<u>19</u>
2	Cl_3CD	TMS	<u>20</u>
3	Cl_3CD	TMS	<u>21</u>
4	Cl_3CD	TMS	<u>22</u>
5	Cl_3CD	TMS	<u>23</u>
6	Cl_3CD	TMS	<u>24</u>
7	DMSO-d_6	TMS	<u>25</u>
8	DMSO-d_6	TMS	<u>26</u>
9	DMSO-d_6	TMS	<u>27</u>
10	DMSO-d_6	TMS	<u>28</u>
11	DMSO-d_6	TMS	<u>29</u>

Datos de los espectros de IR

NÚMERO	CONDICIONES	SUSTANCIA
1	Disolución KBr	<u>19</u>
2	Disolución KBr	<u>20</u>
3	Disolución KBr	<u>21</u>
4	Disolución KBr	<u>22</u>
5	Disolución KBr	<u>23</u>
6	Disolución KBr	<u>24</u>
7	Disolución KBr	<u>25</u>
8	Disolución KBr	<u>26</u>
9	Disolución KBr	<u>27</u>
10	Disolución KBr	<u>28</u>
11	Disolución KBr	<u>29</u>