

Química Farmacéutica de las Acilaminometilpiridinas

Miguel Fernández Braña^{1*}, Yolanda Martín-Cantalejo², Marina Gordaliza³, Ana Sánchez-Migallón⁴

¹Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. ²Departamento de Ciencias. Escuela Politécnica. Universidad Europea de Madrid. ³Facultad de Farmacia. Instituto de Estudios de la Ciencia y la Técnica. Universidad de Salamanca. ⁴Departamento de Química. Universidad de Castilla La Mancha.

Recibido el 5 de mayo de 2011.

e-mail: mifbrana@gmail.com

RESUMEN

Se han sintetizado una nueva familia de depresores del Sistema Nervioso Central, basado en un sistema denominado actualmente la "utilización de fragmentos". A uno de los fármacos obtenidos por este procedimiento la OMS le asignó el nombre de picobenzida. Al tratarse de una benzamida sustituida se prepararon análogos modificando los sustituyentes del anillo aromático y se llevó a cabo un estudio QSAR de la serie, que condujo a la optimización de la misma. Un ensayo para modificar el anillo de piridina condujo a una nueva reacción de dimerización para esta clase de compuestos.

Palabras clave: Acilaminometilpiridinas; Picolilamidas; Picobenzida; N-óxidos; QSAR.

ABSTRACT

Pharmaceutical Chemistry of Acylaminomethylpyridines

A new family of central nervous system depressants has been synthesized, applying the methodology now known as the "use of fragments". One of the drugs produced by this process was assigned the name picobenzide by WHO. Being a substituted benzamide, analogues were prepared modifying the substituents of the aromatic ring. A QSAR study was carried out which led to the optimization of the series. A test to modify the pyridine ring led to a new dimerization reaction of this kind of compounds.

Keywords: Acylaminomethylpyridines; Picolilamines; Picobenzide; N-oxides; QSAR.

1. INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, se han empleado diversos procedimientos de la química farmacéutica para el diseño de fármacos, basados en diversas aproximaciones, desde el aislamiento e identificación de productos naturales, hasta la obtención de productos de síntesis fundamentados en los conocimientos bioquímicos, metabólicos, etc. (1). En la década de los 90 se desplaza el interés hacia la química combinatoria, HTS y el estudio de dianas basado en la estructura de las mismas y el modelado molecular. No obstante, el resultado no ha sido lo suficientemente satisfactorios en cuanto a fármacos comercializados (2). Otra herramienta que ha surgido en los últimos años, consiste en el diseño de fármacos basados en el empleo de fragmentos, considerando que sería más eficaz chequear muy pocas moléculas, los “fragmentos” y, a partir de ellas, obtener otras nuevas por unión, expansión o conjugando los mismos (3).

2. DISEÑO

A principio de los años 70, iniciamos un programa de investigación dirigido a la síntesis de nuevos agentes anticonvulsivantes, utilizando el procedimiento de selección y unión de fragmentos, basándonos en dos modelos de gran interés en aquella época: la beclamida I y el ácido valproico II.

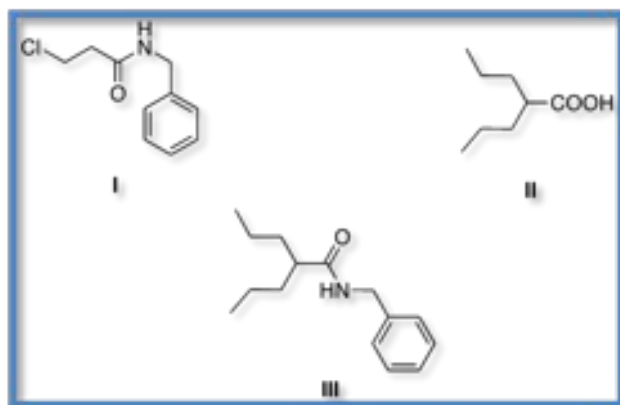


Figura 1. - Diseño de N-bencildipropilacetamida.

La beclamida I fue descrita por Kushner y col. en el año 1951 (4), habiendo sido empleada para el tratamiento del Gran Mal y de la epilepsia psicomotora (5). Las propiedades anticonvulsivantes del ácido valproico se descubrieron de forma casual, en un claro ejemplo de serendipia, cuando Meunier observó que algunos derivados de khellina disueltos en este ácido protegían a los animales de experimentación de las convulsiones producidas por el cardiazol (6). La aplicación clínica se ha dirigido, fundamentalmente, al tratamiento del *Pequeño Mal* y a las

epilepsias temporales, debido a su actividad inhibidora de la GABA-a-cetoglutaratotransaminasa, si bien no son descartables otros mecanismos de acción (7).

Al considerar como modelos ambos compuestos I y II, nos pareció razonable la sustitución en I del radical 2-cloropropionilo por el dipropilacetilo. De esta forma se llegó a la N-bencildipropilacetamida III (Figura 1), dotada de una actividad anticonvulsivante muy débil, pero con una importante acción espasmolítica inespecífica. Este resultado negativo motivó la sustitución del resto acilo en III por el 3,5-dimetilbenzoilo, que simularía en parte una geometría “cíclica y plana” del radical dipropilacetilo. La N-bencil-3,5-dimetilbenzamida IV así obtenida, carece de actividad anticonvulsivante y no es espasmolítica, presentando una potente actividad adrenolítica. No obstante, los resultados obtenidos para esta última actividad eran muy erráticos, debido posiblemente a su escasa solubilidad en medio acuoso, lo que motivó la sustitución del fenilo por los tres regioisómeros posibles de la piridina, V, VI y VII (Figura 2), potencialmente capaces de formar sales hidrosolubles. De los tres, VII es el compuesto más activo, ya que es adrenolítico, antiespasmódico, depresor de la actividad espontánea, potenciador de barbitúricos y analgésicos centrales, hipotermizante y anticonvulsivante en la prueba de la tiosemicarbazida (8).

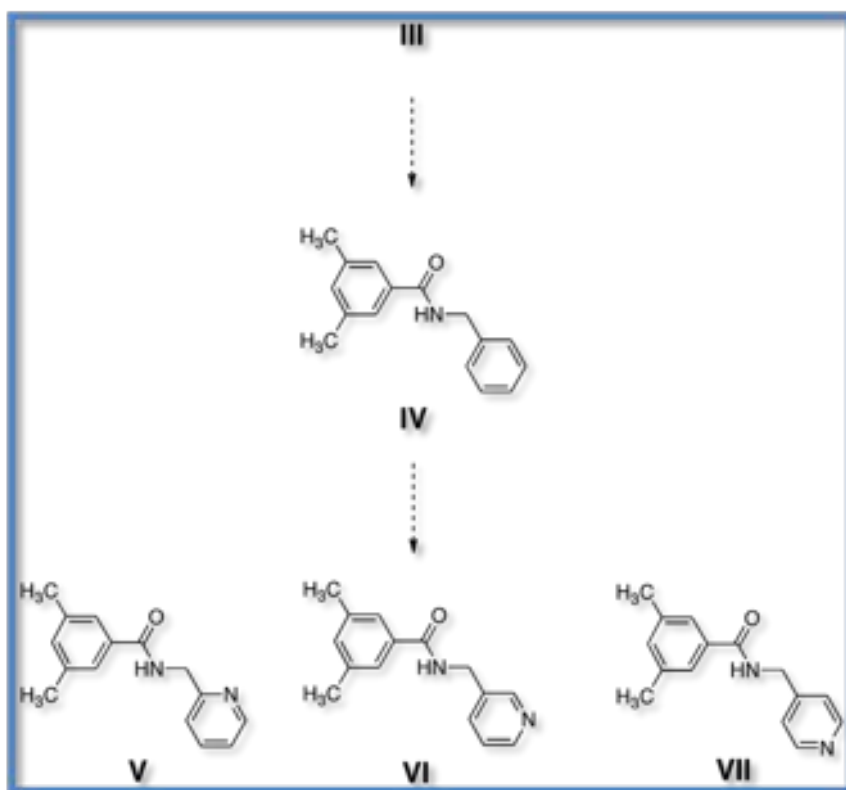


Figura 2. - Origen de las acilaminometilpiridinas.

Este espectro de actividades, que simula en parte el de algunas fenotiacinas, motivó que el compuesto VII fuera seleccionado para el desarrollo preclínico y clínico. La OMS le asignó el nombre de Picobenzide y en nuestro laboratorio se le reconoció como M-14012-4. En la FASE 1 clínica, se aplicó en neuroleptoanalgesia, motivado por su acción potenciadora de los analgésicos centrales (9, 10). Posteriormente, se detuvo el desarrollo clínico por motivos empresariales (en Septiembre de 1984 Knoll A.G. adquirió Laboratorios Made y solo se interesó por la investigación en cáncer).

El estudio de la biotransformación de picobenzida VII en rata demostró, como era de esperar, que el principal metabolito es el N-óxido (Figura 3) que se elimina por vía renal con gran rapidez (11).

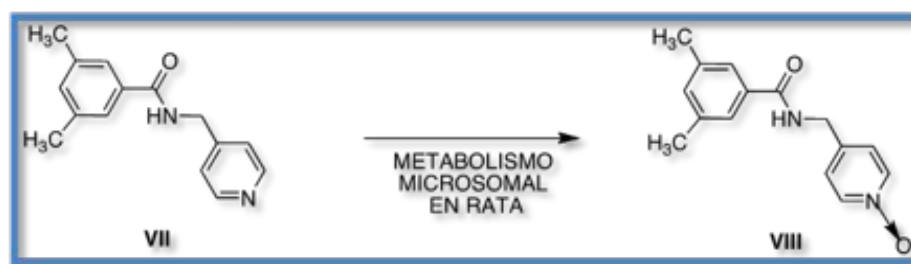


Figura 3. - Biotransformación de picobenzida VII.

Debido al interés terapéutico de picobenzida nos propusimos hacer modificaciones estructurales de acuerdo con la sistemática de la química farmacéutica, iniciando el estudio variando los sustituyentes del anillo bencénico.

3. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

En una revisión bibliográfica para conocer el estado de la técnica, se encontró que en el año 1936, Graf y col. (12) prepararon las tres N-piridilmetilbenzamidias isómeras. Posteriormente, en una patente del año 1962 (13), se describen las propiedades hipotensoras que presentan las N-piridilmetil-3,5-dimetoxibenzamidias, sustituidas en la posición 4 del anillo bencénico y en el anillo de piridina. Hankovsky y col. (14) describieron la síntesis y los efectos sedantes antagonistas de la desoxiefedrina de determinadas N-[w-(piridil)alquil]benzamidias. En un trabajo posterior (15) que las amidias con un metileno más entre el NH y el anillo de piridina eran tranquilizantes y analgésicas.

En el año 1975, se publicó una patente de Upjohn (16) en la que se describen N-piridilalquilbenzamidias activadoras de la biogénesis de prostaglandinas, reivindicando la máxima actividad para la N-(4-piridilmetil)-2-

clorobenzamida. Finalmente, también se han empleado determinadas N-(4-piridil)benzamidias como productos de partida para preparar, por hidrogenación catalítica las correspondientes piperidinas, de propiedades adrenérgicas (17).

4. INFLUENCIA DE LOS SUSTITUYENTES EN EL FENILO SOBRE LA ACTIVIDAD

4.1. Síntesis de N-piridilmetilbenzamidias

Para la síntesis de las N-piridilmetilbenzamidias con diversos sustituyentes en el anillo bencénico se han empleado los tres métodos convencionales que se indican en la Figura 4.

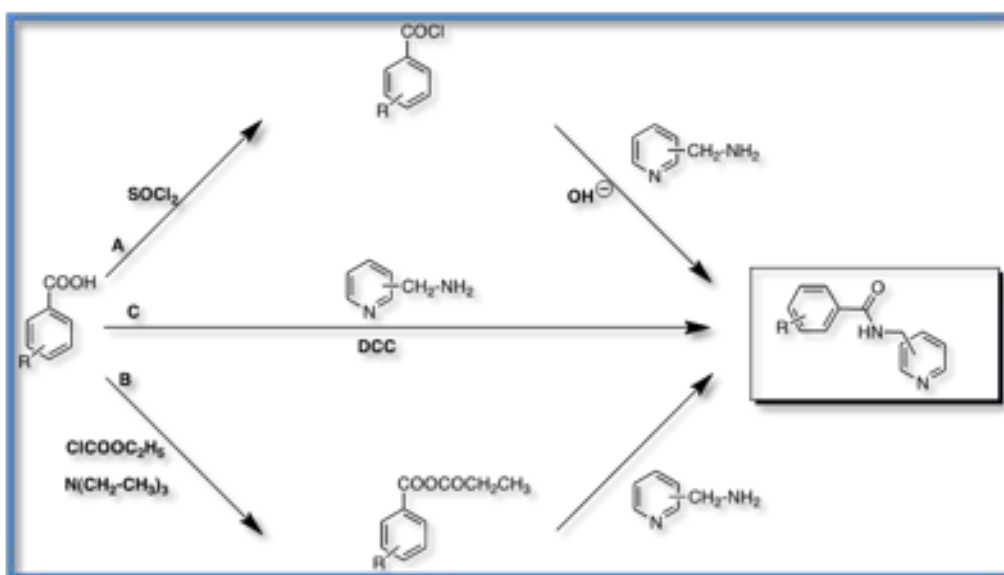
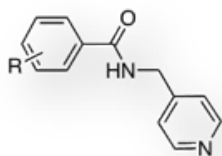


Figura 4.- Síntesis de las N-piridilmetilbenzamidias.

Por el método A se preparó el correspondiente cloruro de benzoilo, que sin purificación posterior se trató con la aminometilpiridina en medio básico; la reacción transcurre con rendimientos medios. Por el método B se realizó la síntesis por reacción directa de la amina con el ácido en presencia de dicitohexilcarbodiimida en un disolvente inerte, en las condiciones empleadas en la obtención clásica de péptidos, con buenos rendimientos. Finalmente, el método del anhídrido mixto por reacción del ácido con cloroformiato de etilo y trietilamina en acetona a 0-5 °C y adición posterior al medio de reacción de la amina en disolución de acetona acuosa, también con buenos rendimientos. La purificación posterior se realizó en todos los casos por cristalización (8).

Tabla 1. - Características de las N-(4-piridilmetil)benzamidas.

COM.	R.	MET.	CRYST.	P.F. °C	Rto. %	REF.
1	H	B	EtOH/H ₂ O	114-5	60	14
2	4-CH ₃	B	H ₂ O	130-1	70	13
3	3-CH ₃	B	DMF/H ₂ O	104-5	65	---
4	2-CH ₃	B	DMF/H ₂ O	146-8	50	13
5	4-t-C ₄ H ₉	B	BENCENE	127-0	90	---
6	4-OCH ₃	B	H ₂ O	138-0	65	13
7	4-SCH ₃	B	EtOH/H ₂ O	150-2	70	---
8	4-OH	B	DMF/H ₂ O	>260	40	13
9	4-NO ₂	A	EtOH/H ₂ O	198-0	66	---
10	4-NH ₂	9+H ₂ /Pd	DMF/H ₂ O	260	86	13
11	4-N(CH ₃) ₂	B	DMF/H ₂ O	206-7	61	---
12	4-NHCOCH ₃	B	H ₂ O	233-5	67	---
13	4-SO ₂ NH ₂	B	H ₂ O	235-7	65	---
14	4-C ₆ H ₅	B	MeOH/H ₂ O	193-4	69	---
15	4-Cl	B	DMF/H ₂ O	133-4	64	13
16	3-Cl	B	EtOH/H ₂ O	88-0	53	---
17	2-Cl	B	EtOH/H ₂ O	98-9	50	12
18	3,5-Cl ₂	B	DMF/H ₂ O	144-6	58	---
19	4-F	A	AcOEt/He	88-0	30	13
20	4-CF ₃	C	MeOH	167-9	94	12
21	4-NHSO ₂ C ₆ H ₅	B	AcOEt	180-1	42	---

Centrándonos en el las 4-benzoilaminometilpiridinas, se prepararon las amidas de esa manera y cuyas características principales se indican en la [Tabla 1](#), así como las referencias correspondientes.

4.2. Estudio de la relación estructura-actividad de la N-4-piridilmetilbenzamidas sustituidas en la posición para

Un estudio inicial tomando todas las amidas de la [Tabla 1](#) no condujo a resultados significativos, por lo que limitamos el método a las mono sustituidas en la posición para de anillo bencénico.

5. EXPRESIÓN DE LA TOXICIDAD Y LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La determinación de la toxicidad y de la actividad biológica puede realizarse fijando las dosis suministradas de fármaco (equidosis), midiendo la variación cuantitativa de la respuesta farmacológica, o bien valorando la cantidad de compuesto que provoca una respuesta estándar (equirespuesta).

Como factor de equirespuesta para la toxicidad se ha utilizado la DL50, determinada en una población de ratones de raza ICR-Swiss, mediante el método de Litchfield-Wilconson (15), administrándose los productos por vía intraperitoneal en forma de hidrocloreuro.

Para el estudio QSAR se utilizó el cologaritmo de la dosis letal cincuenta, pDL50, para cuyo cálculo se emplearon valores molares. Los datos obtenidos se indican en la [Tabla 2](#).

La determinación de la disminución de la motilidad espontánea (A), como medida de la acción depresora sobre el SNC, se realizó según la técnica descrita por Irving (19), utilizando una dosis de 72 mg/kg vía i.p., en sublotos de cinco ratones hembras de raza ICR_Swiss, valorándose en el Actímetro cada diez minutos, durante un tiempo de actuación de 30 min.

Para cuantificar la actividad se empleó el % de la disminución de la motilidad espontánea a la dosis indicada. Los resultados se indican en la [Tabla 3](#).

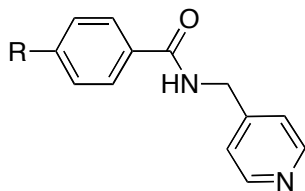
6. ESTUDIO QSAR DE LA TOXICIDAD Y DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

6.1. Toxicidad

Se aplicó el método de Hansch-Fujita para correlacionar la estructura química con la toxicidad y actividad farmacológica de las benzamidas sustituidas en para, empleado los parámetros físico-químicos habituales (20).

En la [Tabla 4](#) se representa la matriz de correlación de los parámetros electrónicos, de lipofilia y estéricos más generales frente a la toxicidad para los compuestos relacionados en la [Tabla 2](#).

Tabla 2. - Toxicidad de las N-(4-piridilmetil)benzamidias para sustituidas.



COMPUESTO	R	DL ₅₀ mg/kg	DL ₅₀ Mol/kg.10 ⁻³	pDL ₅₀
2	CH ₃	364,4	1,610	2,79
5	t-C ₄ H ₉	114,7	0,427	3,379
6	O-CH ₃	390,0	1,610	2,79
8	OH	1277,7	5,597	2,25
9	NO ₂	350,1	1.355	2,87
10	NH ₂	613,1	2,697	2,57
11	N(CH ₃) ₂	300,0	1,175	2,92
12	NHCOCH ₃	1333,8	4,953	2,30
13	SO ₂ NH ₂	1314,1	4,511	2,34
15	Cl	240,0	0,973	3,01
19	F	339,1	1,473	2,83

A partir de la matriz de correlación y teniendo en cuenta el bajo valor de la significación estadística del parámetro electrónico σ , se establecieron las siguientes ecuaciones de correlación:

$$\text{pDL}_{50} = 0,2893\pi + 2,7682 \quad [1]$$

$$n = 11 \quad r = 0,889 \quad s = 0,148$$

$$\text{pDL}_{50} = 0,2834\pi + 0,0045MR + 2,77270 \quad [2]$$

$$n = 11 \quad r = 0,889 \quad s = 0,148$$

Tabla 3.- Valores determinados de la acción depresora de las N-(4-piridilmetil)benzamidias p-sustituidas.

COMPUESTO	R	A	lgA
2	CH ₃	56,3	1,7505
5	t-C ₄ H ₉	97,5	1,9890
6	O-CH ₃	72,9	1,8627
8	OH	98,3	1,9925
9	NO ₂	85,1	1,9299
10	NH ₂	65,6	1,8169
11	N(CH ₃) ₂	93,6	1,9713
12	NHCOCH ₃	99,8	1,9991
13	SO ₂ NH ₂	90,2	1,9552
15	Cl	95,3	1,9791
19	F	97,6	1,9894

De las [Ecuaciones 1 y 2](#) se deduce que la toxicidad depende exclusivamente de fenómenos de lipofilia, ya que la introducción del parámetro estérico MR no modificó el valor del coeficiente de correlación. Para conseguir parametrizar mejor estos efectos, deberían utilizarse constantes de lipofilia características de esta serie de amidias, es decir, recurriendo a parámetros experimentales de fácil determinación, tales como el ΔR_m cromatográfico en lugar de las constantes tabuladas π de Hansch. Así se llegó a la Ecuación 3.

$$pDL50 = a\Delta R_m + b \quad [3]$$

Sin embargo, el problema principal que surgió fue que dichas constantes cromatográficas sirven únicamente para explicar los mecanismos de acción-distribución, lo que limita el modelo hasta el punto de no ser predictivo. Para soslayar el citado problema, se ha venido relacionando los valores de ΔR_m con las constantes tabuladas π . Así, se encontró que existe una relación lineal en la mayoría de los casos (21-23).

Tabla 4.- Matriz de correlación.

	pDL50	σ	π	MR
pDL50	1	0,432 t = 0,13 10%	0,8893 t = 5,83 99,9%	0,2821 t = 0,88 60%
σ		1	0,1530	0,0946
π			1	0,2345
MR				1

Con este objeto, se determinaron los valores cromatográfico del ΔR_m para los 11 compuestos. La correlación entre ambos valores de lipofilia se establece mediante la Ecuación:

$$\Delta R_m = -0,381\pi + 0,0028 \quad [4]$$

n = 11 r = 0,931 s = 0,054

No obstante, tal y como se muestra en la [Tabla 5](#), existe una diferencia significativa entre los valores experimentales y los calculados a partir de la [Ecuación 4](#). Aún más, esta ecuación no tiene ningún valor predictivo para los valores de ΔR_m de los sustituyentes para dos compuestos no incluidos en el análisis (R= H y R= SCH₃) indicados en la [Tabla 6](#). Por ello, no cumple el ya señalado principal objetivo de este tipo de cálculos tendentes a la optimización de la serie; en nuestro caso una menor toxicidad. Con objeto de ajustar ambas series de valores, se introdujeron las variables HB de Fujita, que parametrizan la existencia o ausencia de asociación específica por puentes de hidrógeno en los fenómenos de interacción fármaco-receptor, cuando dicha asociación, que tiene lugar en el medio biológico, es distinta que en el sistema n-octanol/agua (24). Así, se describen dos variables: indicador HB₁ para los aceptores de hidrógeno y HB₂ para los anfipróticos, asignando los valores de 1 cuando se corresponde con alguno

de los casos, y 0 para aquellos sustituyentes que no donan ni reciben hidrógeno; p.e. el grupo NO₂ tendría un valor de HB₁ igual a 1 y HB₂ igual a 0; el OH tendría un valor de 0 para el HB₁ y de 1 para el HB₂; finalmente, un grupo CH₃ tendría un valor de 0 para ambas variables.

Tabla 5.- Valores de ΔR_m.

COMPUESTO	R	ΔR _m ^{esp}	ΔR _m (Ec. 4)	ΔR _m (Ec. 5)	ΔR _m (Ec. 6)
2	CH ₃	-0,074	-0,0074	-0,063	-0,060
5	t-C ₄ H ₉	-0,200	-0,271	-0,206	-0,210
6	O-CH ₃	-0,068	0,005	-0,072	-0,076
8	OH	0,150	0,095	0,154	0,149
9	NO ₂	-0,052	-0,041	-0,046	-0,049
10	NH ₂	0,219	0,173	0,210	0,209
11	N(CH ₃) ₂	-0,097	-0,022	-0,092	-0,098
12	NHCOCH ₃	0,174	0,137	0,184	0,181
13	SO ₂ NH ₂	0,274	0,254	0,269	0,271
15	Cl	-0,079	-0,095	-0,079	-0,076
19	F	-0,020	-0,016	-0,023	-0,015

La introducción de esas variables de indicador en la Ecuación 4 que relaciona ΔR_m con π, conduce a la Ecuación 5.

$$\Delta R_m = -0,0997\pi - 0,0675HB_1 + 0,0962HB_2 - 0,0062 \quad [5]$$

n = 11 r = 0,999 s = 0,006

Aunque dicha Ecuación de correlación posee un excelente coeficiente de correlación y ajusta mejor los valores de ΔR_m experimentales y calculados (Tabla 5), mejorando el carácter predictivo como se observa en la Tabla 6, mostró sin embargo una elevada dependencia entre π y la variable indicador HB₂.

Tabla 6.- Valores de ΔR_m obtenidos en las predicciones de los compuestos p-1 y p-2

COMPUESTO	R	ΔR_{mesp}	ΔR_m (Ec. 4)	ΔR_m (Ec. 5)	ΔR_m (Ec. 6)
p-1	H	0,000	0,002	0,006	0,000
p-2	SCH3	-0,142	-0,081	-0,135	-0,143

Cuando se hizo una representación gráfica de los valores de π tabulados frente a los correspondientes valores de ΔR_m (Figura 5), se encontró una distribución de puntos que se ajusta a tres rectas paralelas. A partir de esta representación, definimos una variable indicador, ID, que supuso una modificación de las HB de Fujita, a la que se le asignaron los valores +1, 0 y -1, para el grupo de sustituyentes que aparecen en las rectas a, b y c, respectivamente.

Mientras que la variable indicador HB de Fujita parametriza la existencia o no existencia de interacción por enlace de hidrógeno con el disolvente, la nueva variable ID supone una extensión del significado físico de aquella, toda vez que el valor de ID = -1 indica que en el medio biológico existe menor asociación que la parametrizada por la constante π de Hansch, medida en el sistema normalizado n-octanol/agua. De la misma forma un valor de ID = 0 significaría una asociación similar en el medio biológico y en el sistema n-octanol/agua. Finalmente, el valor de ID = +1 supondría que en el medio biológico existe una mayor asociación que en sistema químico citado.

La introducción de esta variable en la Ecuación 4, que relaciona ΔR_m con π , conduce a la Ecuación 6:

$$\Delta R_m = -0,1062\pi - 0,0784 ID - 0,002 \quad [6]$$

$$n = 11 \quad r = 0,999 \quad s = 0,007$$

La Ecuación 6 tiene mayor carácter predictivo que las anteriores (Tabla 6) y presenta, adicionalmente, la ventaja de que todas sus variables son relativamente ortogonales (Tabla 7).

Con objeto de aumentar la correlación entre la toxicidad y los parámetros de lipofilia de la Ecuación 1, se ha sustituido en la Ecuación 3 el valor de ΔR_m tal y como se expresa en la Ecuación 6, obteniéndose la Ecuación 7.

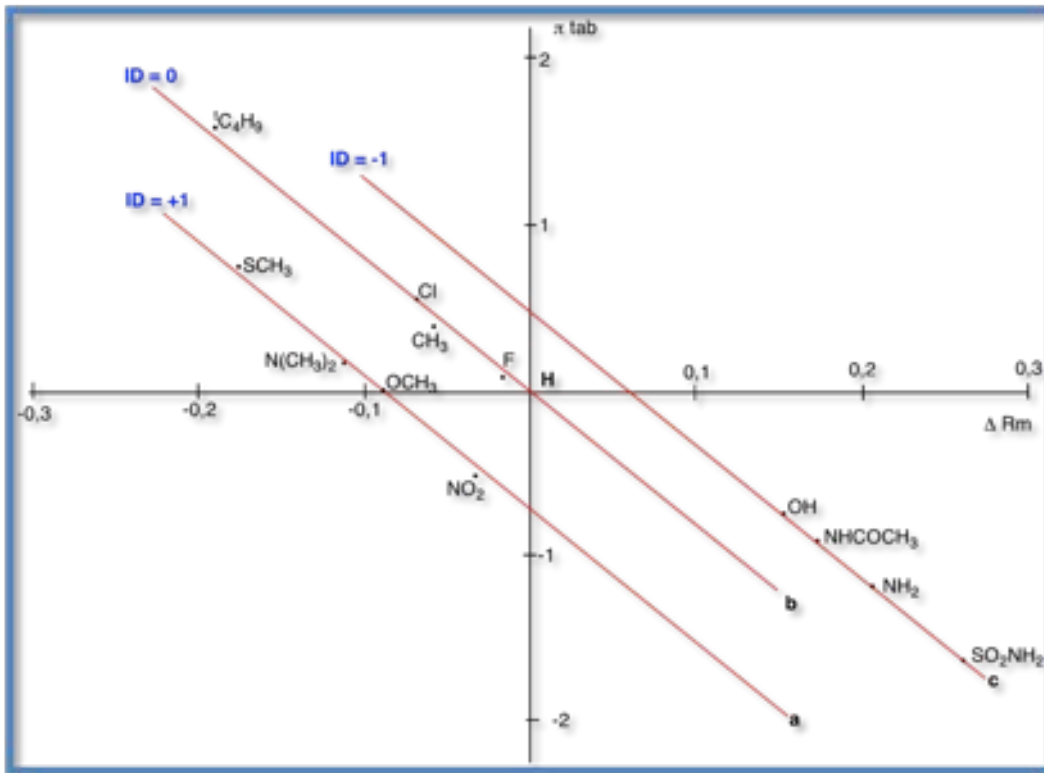


Figura 5. - Relación gráfica entre el π calculado y ΔR_m .

Tabla 7. - Matriz de correlación de las variables indicador y p.

	π	HB ₁	HB ₂	ID
π	1	0,0054	0,7923	0,5117
HB ₁		1	0,4629	0,0946
HB ₂			1	-
ID				1

$$\text{pDL}_{50} = 0,2441\pi + 0,1110 \text{ ID} + 2,77725 \quad [7]$$

$n = 11 \quad r = 0,919 \quad s = 0,127$

Cuando se aplicó a la Ecuación 7 el test F de significación estadística, se obtuvo un valor teórico del mismo de 23,37, con los valores tabulados de $F_{2,8} (\alpha = 0,05) = 4,46$ y $F_{2,8} (\alpha = 0,01) = 8,65$; en consecuencia, la correlación fue significativa para el 99% de los casos.

Además del alto grado de significación estadística, el modelo mostró un carácter predictivo excelente como se deduce de la similitud de los valores calculados a priori y los observados de los compuestos p-1 y p-2, no incluidos en el análisis de regresión, tal y como se indica en la [Tabla 9](#).

En la [Tabla 8](#) se representan los valores observados y calculados de la toxicidad utilizando la Ecuación 7.

Tabla 8.- Diferencias del valor de pDL₅₀ observado y calculado.

COMPUESTO	R	pDL ₅₀ obs.	pDL ₅₀ calc.	Δ pDL ₅₀
2	CH ₃	2,79	2,90	-0,11
5	t-C ₄ H ₉	3,37	3,26	0,11
6	O-CH ₃	2,79	2,87	-0,08
8	OH	2,25	2,49	-0,24
9	NO ₂	2,87	2,82	0,05
10	NH ₂	2,57	2,36	0,21
11	N(CH ₃) ₂	2,92	2,92	0,00
12	NHCOCH ₃	2,30	2,42	-0,12
13	SO ₂ NH ₂	2,34	3,22	0,12
15	Cl	3,01	2,95	0,06
19	F	2,83	2,81	0,02

Tabla 9.- Diferencia de los valores de la pDL50 observados y calculados de los compuestos p-1 y p-2.

COMPUESTO	R	pDL50 obs.	pDL50 Calc.	ΔpDL50
p-1	H	2,70	2,77	-0,07
p-2	SCH3	2,99	3,03	-0.004

6.2. Actividad

Como ya se ha indicado más arriba, la actividad A, empleando una equidosis común, 72 mg/kg en ratón para todos los compuestos, indica la disminución de la actividad espontánea en el Actímetro. Para la optimización de la serie en cuanto a la actividad, también se recurrió al método de Hansch-Fujita como en el caso de la toxicidad para los compuestos de la serie de benzamidas para sustituidas de la [Tabla 11](#). En la [Tabla 10](#) se representa la matriz de correlación que enfrenta la actividad en forma de logA con los parámetros σ , F, R, π y MR.

A partir de la matriz de correlación se obtuvieron las cuatro ecuaciones siguientes:

$$\log A = 0,0413\sigma + 0,046MR + 1,8925 \quad [8]$$

n = 11 r = 0,381 s = 0,074 F = 0,7

$$\log A = 0,0622\sigma + 0,0014MR^2 - 0,0233MR + 1,9919 \quad [9]$$

n = 11 r = 0,614 s = 0,063 F = 1,5

$$\log A = 0,2178F + 0,0073MR + 1,8104 \quad [10]$$

n = 11 r = 0,632 s = 0,062 F = 2,9

$$\log A = 0,2862F + 0,0017MR^2 - 0,0267MR + 1,9082 \quad [11]$$

n = 11 r = 0,866 s = 0,039 F = 7,0

En la [Tabla 11](#) se indican los valores observados y calculados de la actividad farmacológica a partir de la [Ecuación 11](#), que es la que presenta mayor significación estadística.

Además la [Ecuación 11](#) supone un modelo predictivo, como se deduce de la pequeña diferencia entre los valores calculados a priori y observados de los compuestos p-1 y p-2 de la [Tabla 12](#), no incluidos en el análisis de regresión.

Tabla 10. - Matriz de correlación para la actividad.

	logA	σ	F	R	π	MR
LogA	1	0,2075 t=0,64 45%	0,4146 t=1,37 80%	0,0338 t=0,10 10%	0,0611 t=0,18 15%	0,2991 t=0,94 65%
σ		1	0,7599	0,9172	0,1530	0,0946
F			1	0,4379	0,3617	0,3555
R				1	0,0128	0,0894
π					1	0,2345
MR						1

De las Ecuaciones 7 y 11, se puede concluir que, mientras que la toxicidad DL50 depende exclusivamente del parámetro de lipofilia, la actividad depresora de la actividad espontánea A es función de la constante de campo F y de la refractividad molecular MR. Según la Ecuación 7 el compuesto teóricamente óptimo de la serie debería presentar valores bajos de π y negativos de ID con lo que la toxicidad sería mínima; mientras que la actividad máxima, según la Ecuación 11 se correspondería con valores altos de F y MR.

De todos los posibles, el compuesto más asequible desde el punto de vista sintético y que cumplía las condiciones anteriores sería el fenilsulfonilamino 21 (Figura 6).

Tabla 11.- Diferencias entre los valores experimentales y calculados de logA.

COMPUESTO	R	logA obs.	logA calc.	$\Delta\log A$
2	CH ₃	1,75	1,80	-0,05
5	t-C ₄ H ₉	1,99	2,01	-0,02
6	O-CH ₃	1,86	1,87	-0,01
8	OH	1,99	1,92	0,07
9	NO ₂	1,93	1,99	-0,06
10	NH ₂	1,81	1,81	0,00
11	N(CH ₃) ₂	1,97	1,93	0,04
12	NHCOCH ₃	1,99	1,96	0,03
13	SO ₂ NH ₂	1,95	1,95	0,00
15	Cl	1,97	1,92	0,05
19	F	1,98	2,00	0,02

Tabla 12.- Diferencia de los valores de logA observados y calculados de los compuestos p-1 y p-2.

COMPUESTO	R	logA obs.	logA calc.	$\Delta\log A$
p-1	H	1,80	1,87	-0,07
p-2	SCH ₃	1,94	1,92	0,02

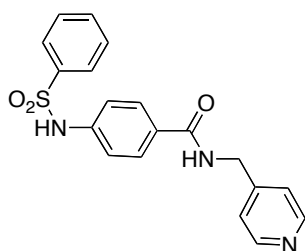


Figura 6.- Estructura del fenilsulfonilamino 21.

El compuesto 21 fue sintetizado por reacción del compuesto 10 con cloruro de bencenosulfonilo en las condiciones de una reacción de Hinsberg.

Cuando se determinó la DL50, se encontró una buena concordancia entre la toxicidad experimental y la calculada con la Ecuación 7, siendo 21 mucho menos tóxico que el prototipo picobenzida, con un valor de DL50 > 1.600 mg/kg en el ratón por vía intraperitoneal. Respecto al valor de la actividad, presentó a la misma equidosis empleada, una actividad superior al 100%, por lo que hubo que reducir la dosis a 12 mg/kg. La actividad encontrada fue de $\log A = 1,70$, valor parecido al de picobenzida, $\log A = 1,62$ para la dosis elevada (25).

6.3. Influencia de los sustituyentes en el metileno piridínico

En el primer ensayo que se realizó para funcionalizar el metileno piridínico de las picobenzida, se trató el correspondiente N-óxido de picobenzida con anhídrido acético en las condiciones de una reacción de Polonovski (26), ver Figura 7, en su extensión a los N-óxidos de piridina (27).

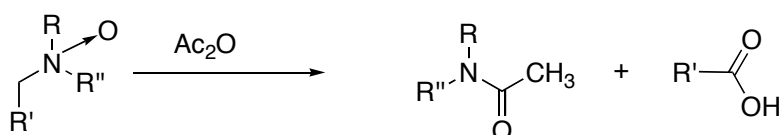


Figura 7. - Esquema de la reacción de Polonovski.

Así, por tratamiento de la picobenzida con agua oxigenada en medio acético (28), según la reacción indicada en la Figura 8, se obtuvo el compuesto VIII, con un rendimiento del 70%, que cristalizó en etanol y presentó un punto de fusión de 180 °C. Todos los datos espectroscópicos y el análisis elemental confirmaron la estructura indicada.

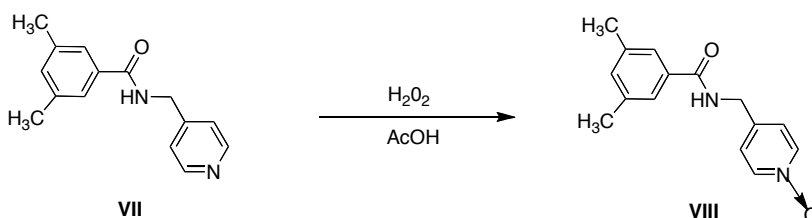


Figura 8.- Síntesis del N-óxido de la picobenzida.

6.4. Reacción de VIII con anhídrido acético a 100 °C

Por calefacción a 100 °C de VIII con anhídrido acético en baño de agua, se obtuvo un compuesto blanco, que fue caracterizado por sus datos analíticos y

espectroscópicos y que se correspondía con la N-[(α -acetoxi)-4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida IX (Figura 9).

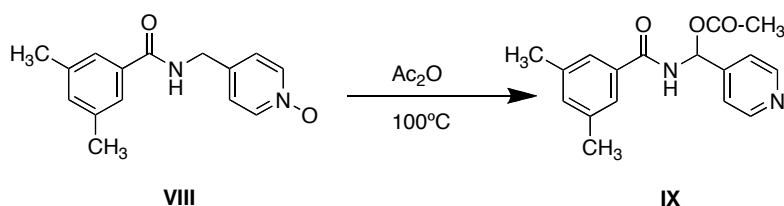


Figura 9.- Reacción del N-óxido de picobenzida VIII con anhídrido acético a 100°C .

La formación de IX se justificó a través del esquema aceptado en la literatura para los N-óxidos de piridina sustituidos en posición 4 con grupos alquilo, por reacción con el anhídrido acético (29). Así, el paso inicial consistiría en la acetilación de la función N-óxido para formar la sal de N-acetoxipicolinio X, que al perder un protón, que captaría la base acetato, daría lugar a la anhidro base XI, que, por transposición molecular vía un par iónico, daría lugar a IX, como se representa en la Figura 10.

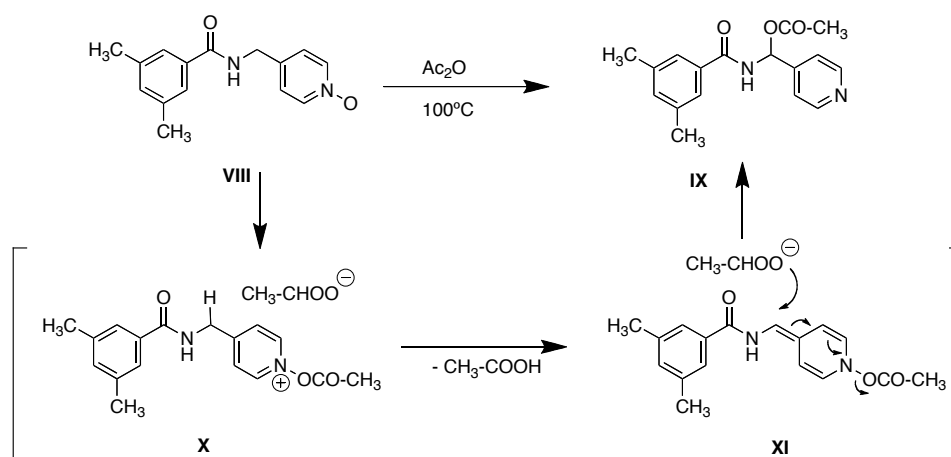


Figura 10. - Mecanismo de formación de N-[(α -acetoxi)-4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida IX.

En la cromatografía en capa fina de la N-[(α -acetoxi)-4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida IX, empleando como eluyente benceno-etanol 9:1, se observaron tres manchas de intensidad semejante, cuyos respectivos R_f fueron de 0,28, 0,18 y 0,14, respectivamente. Para el aislamiento e identificación de dichos productos se recurrió a la cromatografía en columna sobre gel de sílice, utilizando el mismo disolvente que en la capa fina. Únicamente la primera fracción se correspondía con el producto de $R_f = 0,28$ y se identificó como la N-[(α -etoxi)-4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida XII, mediante técnicas analíticas y espectroscópicas. La segunda

terbutílico, obteniéndose los productos esperados de la SN, con aceptables rendimientos (30).

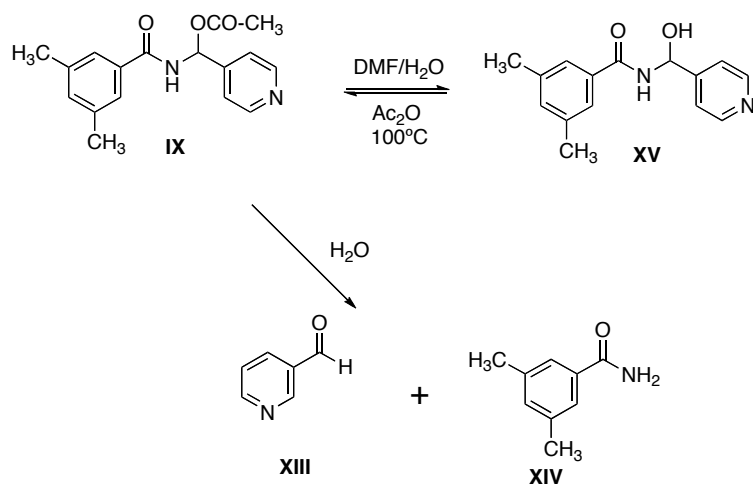


Figura 12. - Hidrólisis parcial y total de la N-[(α-acetoxi)- 4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida IX.

6.5. Reacción de VIII con anhídrido acético a 140 °C

Cuando se probó la calefacción del N-óxido VIII con anhídrido acético a la temperatura de reflujo (140 °C), se formó en poco tiempo e inesperadamente, un precipitado blanco, compuesto por dos productos, con distinto rendimiento, de naturaleza dendrímica, la N,N'-bis-(3,5-dimetilbenzoil)-1,2-di-(4-piridil) etilendiamina XVI y la N,N'-bis-(3,5-dimetilbenzoil)-1,2-di-(4-piridil) vinilendiamina XVII (Figura 13), perfectamente caracterizadas por sus datos analíticos y espectroscópicos (31).

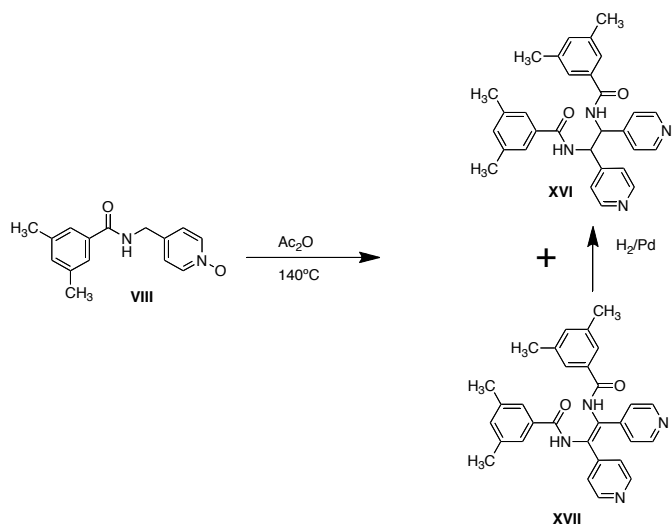


Figura 13.- Reacción de VIII con anhídrido acético a 140°C.

Para confirmar la relación estructural entre ambos dímeros se realizó una hidrogenación catalítica en presencia de Pd/C al 10%, obteniendo XVI a partir de XVII, con rendimiento prácticamente cuantitativo. Lamentablemente, el estudio estereoquímico de XVII no se pudo llevar a cabo debido a su elevada insolubilidad y la falta de instrumentación adecuada.

Para confirmar la estructura de XVI, se procedió a la hidrólisis con ácido sulfúrico al 30%, aislándose el ácido 3,5-dimetilbenzoico y otro compuesto de estructura nueva que se identificó como la 2-(3',5'-dimetilfenil)-4,5-di-(4'-piridil)-2-imidazolina XVIII. En las mismas condiciones XVII suministra el mismo ácido y el imidazol correspondiente XIX (Figura 14).

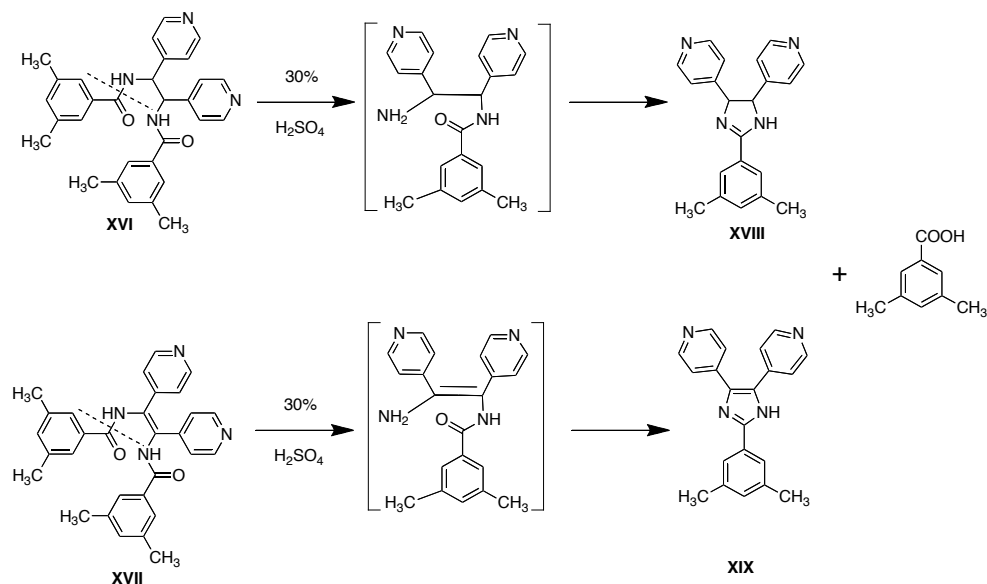


Figura 14.- Hidrólisis parcial de los dímeros XVI y XVII.

El hecho de que en la reacción del N-óxido de picobenzida VIII con anhídrido acético a 140 °C se obtengan los compuestos de dimerización y no se aisle la N-[(α-acetoxi)-4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida IX, obtenida como producto único cuando la reacción se hace a 100 °C, parece indicar que hay un proceso de ruptura homolítico frente al heterolítico (Figura 15). El primer paso del proceso, supondría la formación de IX, siguiendo el esquema de la Figura 10, que por una ruptura homolítica daría lugar a la formación del radical de naturaleza resonante XX y éste por coligación daría lugar al dímero XVI, el cual mediante una reacción de transferencia, seguida de desproporción radicalica formaría el homólogo insaturado XVII.

Para confirmar que la N-[(α-acetoxi)-4-piridilmetil]-3,5-dimetilbenzamida IX es el intermedio preconizado de la reacción, repetimos la misma partiendo directamente de IX, en las mismas condiciones experimentales, llegándose a XVI sin modificación en el rendimiento.

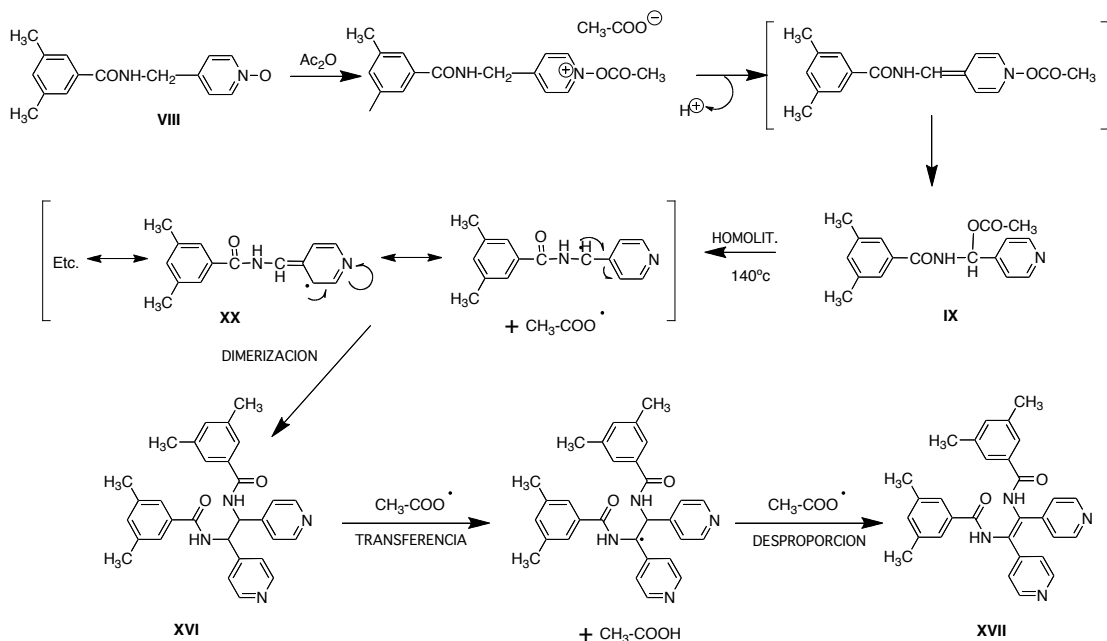


Figura 15.- Posible mecanismo de la reacción de formación de los dímeros XVI y XVII.

El hecho de que cuando la reacción se realiza en presencia de generadores de radicales, como el peróxido de benzoilo, o de inhibidores, como la hidroquinona, tampoco exista modificación aparente del rendimiento de XVI y XVII, parece indicar que dicha reacción transcurre por un mecanismo de radicales enjaulados, lo que, por otra parte, confirma los trabajos de Oae y Traynelis (32-34).

Finalmente, cuando la reacción se llevó a cabo en condiciones fotoquímicas se formó XVI con mejores rendimientos que en condiciones térmicas, lo que aboga aún más en la existencia de procesos homolíticos (31).

En el screening ciego el compuesto XVI presentó un intensa actividad como analgésico-antinflamatorio, superior incluso al dextropropoxifeno, analgésico morfínico que habitualmente se utilizaba como patrón en la determinación de la actividad analgésica, tanto por vía intraperitoneal como por vía oral. Este resultado justificó el desarrollo preclínico posterior y la síntesis de una serie relacionada, conforme a la metodología de la química farmacéutica.

7. AGRADECIMIENTOS

A Dña. Estrella Cruzado que fue la primera en observar la correlación de la Figura 5.

8. REFERENCIAS

1. Abrahan, D.J., & Rotella, D.P. (2010) Burger's Medicinal Chemistry. Drug Discovery and Development, (7th Ed.). Wiley. Nueva York.

2. Hajduk, P.J., & Greer, J. (2007) A decade of fragment-based drug design: strategic advances and lessons learned. *Nature Reviews/Drug Discovery*, 6: 211-219.
3. Erlanson, D.A., McDowell, R.S., & O'Brien T. (2004) Fragment-based drug discovery. *J. Med. Chem.*, 47: 3463-3482.
4. Kushner, S., Casell, R.I., Morton, J., & Williams, J.H. (1951) Anticonvulsants. N-Bencilamides. *J. Org. Chem.*, 16: 1283-1288.
5. Schmitt H. (1973) *Elements de Pharmacologie* (5e. Ed.). Pag. 90. Flamarion, París.
6. Meunier, G., Carraz, G., Meunier, Y., Eymard, P., & Aimard, M. (1963) Pharmacodynamic properties of 2,2-dipropylacetic acid. *Thérapie*, 18: 435-438.
7. Rosemberg, G. (2007) The mechanism of action of valproate in neuropsychiatric disorders: can we see the forest for the trees? *Cell. Mol. Life Sci.*, 64: 2090-2103.
8. Braña, M.F., Castellano, J.M., Roldán., C.M., & Rabadán, F.P. (1978) Medicinal Chemistry of 3,5-dimethylbenzoic acid. I. N-picolylamides. *Arch. Farmacol. Toxicol.*, IV: 237-246.
9. Carrasco, M.S., Nalda, M.A., Casais, L., & Cuenca, E. (1985) Clinical Pharmacological studies on a new substance with posible neuroleptic activity. Its use in anesthesiology. *Farmacía clínica*, 2: 100-2: 108-109: 111-113.
10. Calvo, M.V. Nalda, M.A, Lanao M.J. Domínguez-Gil, A., & Carrasco S. (1985) Pharmacokinetics and initial distribution of a new neuroleptic agent Picobenzide (M-14012-4). *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 25: 233-237.
11. García de Jalón, P.D., González, E., Idoipe A., Larrañaga M.R.M., & Braña M.F. (1979) Metabolism and kinetics of renal elimination of N-picolyl-3,5-dimethylbenza-mides. *Arzneim. Forsch./Drug. Res.*, 29: 1704-1707.
12. Graf, R., Perathoner, G., & Tatzel, M. (1936) Pyridylaminomethanes *J. Prak. Chemie (Leipzig)*, 146: 88-104.
13. U.S. Pat. 912,496 (1962. (a American Cyanamid Co.).
14. Hankovsky, H.O., & Hideg, K. (1966) Preparation of some N-(pyridylalkyl)-benzamides and benzoate derivatives. *J. Med. Chem.*, 9: 151-153.
15. Sam, J. ((1967) New compounds. Amides derived from 2-(2pyridyl)ethylamines. *J. Pharm Sci.*, 56:1202-1205.
16. Callahan, W.A., Glen, E.M., & Rector D.L, (1975) Ger. Offen. 2,460,756 (a Upjhon Co.).
17. Roll, W.D. (1977) Preparation of piperidinyl-alkylbenzamides. US Pat. 4,035,373 (a University of Toledo, OH).
18. Litchfield, J.T., & Wilconson, F.J. (1949) A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 96: 99-113.
19. Irwin, S. (1965) The organization of screening. Screening methods in pharmacology. Ed. R.A. Turner. Academic Press. Nueva York.
20. Hansch, C., Leo, A., Unger, S.H., Kim, K.H., Nikaitani, D., & Lien E.J. (1973) Armatic substituent constants for structure-activity correlations. *J. Med. Chem.*, 16: 1207-1216.
21. Tomlison, E. (1975) Chromatographic Hydrophobic parameters in correlation analysis of structure-activity relationships. *J. Chromatogr.*, 113: 1-45.
22. Biagi, G.L., Barbaro, A.M.Gandolfi, O., Guerra, M.C., & cantalli-Forti. Rm values of steroids as an expression of their lipophilic character in structure-activity studies. *J. Med. Chem.*, 18: 873-883.
23. Teulade, J.C., Grasssy, G., Girard, J.P., Chapat, J.P., & Simeon de Bouchberg, M. (1978) Antibacterial derivatives of 3-nitroimidazo (1,2-a)Pyridine and in vitro structure-activity relationship. *Eur. J. Med. Chem.*, 13: 271-276.
24. Fujita, T., Nikioka, T. & Nakajima, N. (1977) Hydrogen -bonding parameter and its significance in quantitative structure-activity studies. *J. Med. Chem.*, 20: 1071-1081,

25. Braña, M.F., López Rodríguez, M.L., & López Arenosa, R. (1981) Relación estructura-actividad cuantitativa de una serie de N-(4-piridilmetil)-benzamidias p-sustituidas con acción neuroléptica. *An. Quim.*, 77: 159-165.
26. Polonovsky, M., & Polonovski, M. (1927) Polonovski reaction. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 41: 1190-1208.
27. Oae, S., Tamagaki, S., & Kozuca, S (1970) The mechanism of the reaction of 2- and 4-alkylpyridine N-oxides with acetic anhydride. *Tetrahedron*, 26: 4051-4063.
28. Katritzky, A.R., & Lagowski, J.M. (1971) Chemistry of the heterocyclic N-oxides. Pag. 279-362. Academic Press, Londres.
29. Boekelhelde, V., & Linn, W.J. (1954) Rearrangements of N-oxides. A novel synthesis of piridil carbinols and aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.*, 76: 1286-1291.
30. Braña, M.F., & López Rodríguez, M.L. (1981) Synthesis and reactivity of N-[(a-acetoxy)-4-pyridylmethyl]-3,5-dimethylbenzamide. *J. Heterocyclic Chem.*, 18: 869-871.
31. Braña, M.F., & López Rodríguez, M.L. (1980) Reaction of N-(4-pyridylmethyl)-amide N-oxides with acetic anhydride. *Tetrahedron Lett.*, 21: 3923-3924.
32. Oae, S., Kitao, T., & Kitaoka, Y. (1962) The mechanism of the reaction of 4-pycoline N-oxide with acetic anhydride. *J. Am. Chem Soc.*, 84: 3362-3365.
33. Traynelis, V.J., & Gallagher, A.I. (1965) Aromatic N-oxides.V. The reaction of 4-picoline N-oxide with various anhydrides. *J. Am. Chem. Soc.*, 87: 5710-5715.
34. Oae, S., Tamagaki, S., Negoro, T., & Kozuka, S. (1970) The mechanism of the reaction of 2- and 4-alkylpyridine N-oxides with acetic anhydride. *Tetrahedron*, 26: 4051-4063.