



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE FARMACIA

POSTGRADO DE QUIMICA DE MEDICAMENTOS

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA POSIBLE ACTIVIDAD
ANTIMALÁRICA Y ANTINEOPLÁSICA DE DERIVADOS
7-CLOROQUINOLINA-4-SUSTITUIDOS

AUTOR: FTICO. MELINA C. MONASTERIOS HEYDRA

TRABAJO PRESENTADO ANTE LA ILUSTRE UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
DOCTOR EN QUÍMICA DE MEDICAMENTOS OPCIÓN SÍNTESIS DE MEDICAMENTOS

TUTORES:

DR. JAIME ENRIQUE CHARRIS CHARRIS

DRA. NEIRA GAMBOA DE DOMÍNGUEZ

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al Título de *Doctor en Química de Medicamentos* opción *Síntesis de Medicamentos* ante la Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

Este trabajo fue realizado en las Unidades de Investigación: *Laboratorio de Síntesis Orgánica* y *Unidad de Química Medicinal* de la Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

A la memoria de mis queridos *Padres* que *Dios*
los tenga en su *Santa Gloria*.

AGRADECIMIENTOS

- A mis tutores Dr. Jaime Charris y Dra. Neira Gamboa por su paciencia y sus valiosas enseñanzas durante la realización de este trabajo.
- Al Dr. Michel Mijares y a la MSc. María Eugenia Acosta por la realización de la evaluación de las actividades Antineoplásica y Antimalárica respectivamente.
- A la Dra. Margarita Salazar y a la Dra Claudia Alvarado por su colaboración para la realización de los ensayos antimaláricos *in vivo*.
- A la Prof. Gricela Lobo por su valiosa amistad y estímulo en todo momento.
- A mi amiga Rosa y a las estudiantes Lucy y Zugey por su colaboración en la realización de la parte experimental.
- A mis compañeros del Laboratorio de Síntesis Orgánica, especialmente a los Profs. Joyce Gutiérrez y Miguel Rodríguez, queridos ex alumnos ahora buenos amigos.
- A las Profs. Trina Colman, María Isabel Amaro y Milagros Avendaño por su apoyo tanto en lo profesional como en lo personal.
- A mi querido hijo Luis Fernando, a mi hermana Maité y a mi amiga Evelyn por su gran comprensión y amor hacia mi persona.
- A la ilustre Universidad Central de Venezuela y a mi idolatrada Facultad de Farmacia por la formación académica y profesional que me han brindado.
- A los que de una u otra forma me acompañaron...

A todos ¡Mi eterno Agradecimiento!

INDICE

	Página
Abreviaturas, Símbolos y Siglas	v
Lista de Figuras	viii
Lista de Gráficos	xiii
Lista de Esquemas	xiv
Lista de Tablas	xvi
Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
1.1. Malaria o Paludismo	6
1.1.1. Malaria en las Américas	6
1.1.2. Agente causal o etiológico de la Malaria	8
1.1.3. Quimioterapia Antimalárica	13
1.1.4. Resistencia a los Fármacos Antimaláricos	28
1.1.5. Derivados de la Quinolina como Antimaláricos	31
1.2. Cáncer o Neoplasia	35
1.2.1. Terapia Antineoplásica	40

	Página
1.2.2. Mecanismo de acción de los Fármacos Antineoplásicos	41
1.2.3. Clasificación de los Antineoplásicos	43
1.2.4. Luotonina: Un nuevo alcaloide Quinólinico	55
1.2.5. Utilización de la CQ y sus congéneres como Antineoplásicos	55
1.3. Descubrimiento de nuevos Fármacos: Síntesis de compuestos	58
1.3.1. Investigaciones en Antimaláricos derivados de la Quinolina	58
1.3.2. Investigaciones en Antineoplásicos derivados de la Quinolina	65
1.3.3. Derivados de la Quinolina Antimaláricos y Antineoplásicos	70
1.3.4. Chalcona: Núcleo químico presente en AM y AN	72
1.4. Modificación Molecular: Optimización de un Prototipo	73
1.4.1. Farmacomodulación en derivados de la Quinolina	76
2. Antecedentes	78
3. Justificación	83
4. Objetivos	86
4.1. Objetivo General	87
4.2. Objetivos Específicos	87
5. Resultados y Discusión	90
5.1. Sección Química	91

	Página
5.1.1. Síntesis y Caracterización de los Intermediarios	
1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona (2 y 3)	93
5.1.2. Síntesis y Caracterización de los Derivados	
(<i>E</i>)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituído) prop-2-en-1-ona (4, 5)	97
5.1.3. Síntesis y Caracterización de los Derivados	
7-cloro- <i>N</i> -(3 o 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituidos)-1H-pirazol -3-il)fenil)quinolin-4-amina (6 y 7)	104
5.1.4. Síntesis y Caracterización de los Derivados	
1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos) propan-1-ona (8 y 9)	109
5.1.5. Síntesis y Caracterización del Intermediario	
2-(7-cloroquinolin-4-ilamino) carbamato de <i>t</i> -butilo (10) y Derivados 1-(7-cloroquinolin-4-il amino) -3-(fenil-sustituído)úrea (11)	111
5.2. Sección Biológica	113
5.2.1. Actividad Antimalárica	113
5.2.2. Actividad Antineoplásica	122
6. Parte Experimental	143
6.1. Consideraciones Generales	144
6.2. Sección Química	145

	Página
6.2.1. Procedimiento general para la Síntesis de los Intermediarios 1-(3 o 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona (2 y 3)	145
6.2.2. Procedimiento General para la Síntesis de los Derivados (<i>E</i>)-1-(3 o 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenil sustituidos)prop-2-en-1-ona (4, 5)	148
6.2.3. Procedimiento General para la Síntesis de los Derivados 7-cloro- <i>N</i> -(3 o 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituidos)-1H-pirazol-3-il) fenil)quinolin-4-amina (6 y 7)	174
6.2.4. Procedimiento General para la Síntesis de los Derivados 1-(3 o 4-(7-cloro quinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)propan-1-ona (8 y 9)	187
6.2.5. Síntesis del Intermediario 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino) carbamato de <i>t</i> -butilo (10)	192
6.2.6. Procedimientos Generales para la Síntesis de los Derivados 1-(7-cloro-4-quinolinil amino)-3-(fenil-sustituído) urea (11)	194
6.3. Sección Biológica	195
6.3.1. Actividad Antimalárica	195
6.3.2. Actividad Antineoplásica	198
7. Conclusiones y Recomendaciones	200
8. Referencias	203
9. Anexos	226

ABREVIATURAS, SIMBOLOS Y SIGLAS

α	Alfa
Å	Amstrong
A549	Línea celular de cáncer de pulmón
ADN	Acido Desoxirribonucleico
Anal.	Análisis elemental
ANOVA	Análisis de varianza de dos vías
As ₂ O ₃	Trióxido de Arsénico
β	Beta
C	Carbono
°C	Grado Centígrado
Ca	Calcio
calc.	Calculado
Cl ₅₀	Concentración inhibitoria 50
Cl	Cloro
CO ₂	Dióxido de carbono
COSY	Correlación espectroscópica
CQ	Cloroquina
cm ⁻¹	Centímetros recíprocos
δ	Desplazamiento químico
<i>d</i>	Doblete
<i>dd</i>	Doblete de doblete
dept	Mejora sin distorsión por transferencia de polarización
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DSPI	Días de sobrevivencia de los ratones post-infección

F	Flúor
FDA	Administración de drogas y alimentos
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
FLOCK	Correlación a dos o a tres enlaces de núcleos diferentes
g	Gramos
h	horas
H	Hidrógeno
HETCOR	Correlación heteronuclear
HL60	Línea celular de leucemia humana promielocítica
Hz	Hertz
IF β H	Inhibición de la formación de β -hematina
ip	intraperitoneal
IP	Ioduro de propidio
IPA	Indice Parasitológico Anual
IR	Infrarrojo
IS	Indice de Selectividad
J	Constante de acoplamiento
Jurkat E6.1	Línea celular de leucemina linfocítica humana
KBr	Bromuro de potasio
Kg	Kilogramo
<i>m</i>	Multiplete
M ⁺	Ión molecular
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama
μ g	Microgramo
mg	Miligramo
μ M	Micromolar
MIC	Concentración Mínima Inhibitoria

min.	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetro
MTI	Mosquiteros tratados con insecticidas
MTT	Método del 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
N	Nitrógeno
nm	Nanómetro
NTD	Enfermedades tropicales desatendidas
O	Oxígeno
OMS	Organización Mundial de la Salud
% P	Porcentaje de parasitemia
<i>P.</i>	<i>Plasmodium</i>
pf	Punto de fusión
Ph	Fenilo
PNUD	Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo
ppm	Partes por millón
PS	Fosfatidilserina
RMB	Hacer retroceder la malaria
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protones
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbonos
<i>s</i>	Singlete
<i>sa</i>	Singlete ancho
SD	Desviación estándar
S _N Ar	Sustitución Nucleofílica Aromática
<i>t</i>	Triplete
<i>td</i>	Triplete de dobles

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Ciudades o áreas con riesgo de transmisión de malaria 2010.	4
Figura 2	Incidencia del Cáncer alrededor del Mundo.	5
Figura 3	Áreas de riesgo de malaria: Municipios según el Índice Parasitológico Anual (IPA), Venezuela hasta la semana Epidemiológica 14, año 2010.	7
Figura 4	Especies de <i>Plasmodium</i> infectantes para el hombre	8
Figura 5	Ciclo evolutivo del <i>Plasmodium</i> .	10
Figura 6	Estructura de hemo, β -hematina y hemozoina.	11
Figura 7	Posibles mecanismos de toxicidad del Hemo libre (Fe^{+3}) en el <i>Plasmodium</i> .	12
Figura 8	Estructura de los colorantes utilizados como antimaláricos.	14
Figura 9	Estructura de la Quinina.	16
Figura 10	Derivados de la 8-Aminoquinolina y su activación metabólica.	17
Figura 11	Estructura de la Quinacrina.	18

	Página
Figura 12 Derivados de la 4-Aminoquinolina.	20
Figura 13 Estructura de las Sulfonamidas y las Sulfonas utilizadas como antimaláricas.	21
Figura 14 Estructura de la Pirimetamina.	22
Figura 15 Bioactivación del Proguanil (Cloroguanil).	23
Figura 16 Estructura de la Mefloquina (mezcla racémica).	24
Figura 17 Artemisinina y compuestos derivados.	25
Figura 18 Estructura de los Antimaláricos policíclicos.	26
Figura 19 Acumulación de la CQ en el parásito por una “trampa de iones”.	32
Figura 20 Relación estructura-actividad propuesta para los derivados de la CQ.	34
Figura 21 Origen del cáncer.	35
Figura 22 Fases de la carcinogénesis.	36
Figura 23 Ciclo celular y apoptosis.	42

	Página
Figura 24	Estructura química de algunos agentes alquilantes. 45
Figura 25	Estructura química de algunos antimetabolitos. 47
Figura 26	Estructura química de algunos antibióticos. 48
Figura 27	Estructura química de los alcaloides de la Vinca. 49
Figura 28	Estructura química de los Taxanos y de los derivados de la Podofilotoxina. 50
Figura 29	Estructura química de los alcaloides quinolínicos antineoplásicos. 51
Figura 30	Estructura química de la Estreptonigrina y la Criptolepina. 52
Figura 31	Estructura química de los complejos de coordinación del Platino. 53
Figura 32	Diseño de la Mitoxantrona. 54
Figura 33	Estructura de la Luotonina. 55
Figura 34	Estructura de los antibacterianos quinolínicos con acción antineoplásica. 57
Figura 35	Rasgos estructurales de los análogos de la CQ antineoplásicos. 66

	Página
Figura 36 Estructura del núcleo chalcona y de la Licochalcona A.	72
Figura 37 Etapas en el descubrimiento y desarrollo de un nuevo fármaco.	74
Figura 38 Variación disyuntiva de la Quinina.	75
Figura 39 Derivados híbridos con actividad antimalárica.	77
Figura 40 Derivados sintetizados como antimaláricos potenciales.	80
Figura 41 Derivados de la quinolina y de la chalcona.	81
Figura 42 Derivados estructuralmente poco relacionados con posible actividad antimalárica.	82
Figura 43 Derivados 7-cloro-4-quinolina sustituidos propuestos.	84
Figura 44 Diseño de nuevos derivados por farmacomodulación de la funcionalidad cetona α,β -insaturada.	85
Figura 45 Estructuras y numeración de los intermediarios 2 y 3 .	94
Figura 46 Estructura general y numeración de los derivados 4 .	98
Figura 47 Estructura general y numeración de los derivados 5 .	103

		Página
Figura 48	Estructura general y numeración de los derivados 6 y 7 .	107
Figura 49	Estructura general y numeración de los derivados 8 y 9 .	110
Figura 50	Estructura y numeración del intermediario 10 y de los derivados 11 .	112
Figura 51	Fundamento del ensayo de MTT.	121

LISTA DE GRAFICOS

		Página
Gráfico1	Principales causas de fallecimientos por enfermedad en Venezuela, año 2005.	37
Gráfico 2	Días de supervivencia post infección y % de supervivencia de los derivados 4e, 6e, 5g y 7g.	119
Gráfico 3	Análisis de citometría de flujo.	132
Gráfico 4	Análisis de citometría de flujo de las células apoptóticas después del tratamiento de las células Jurkat E6.1 con los derivados 4.	133
Gráfico 5	Análisis de citometría de flujo de las células apoptóticas después del tratamiento de las células HL60 con los derivados 4.	134
Gráfico 6	Análisis de citometría de flujo de las células apoptóticas después del tratamiento de las células MCF-7 con los derivados 4.	135
Gráfico 7	Análisis de citometría de flujo de las células apoptóticas después del tratamiento de las células A549 con los derivados 4.	136

LISTA DE ESQUEMAS

		Página
Esquema 1	Síntesis de Skraup de quinolinas.	59
Esquema 2	Síntesis reportada por Madrid y colaboradores.	60
Esquema 3	Síntesis reportada por Joshi y colaboradores.	61
Esquema 4	Síntesis de una biblioteca análogos de la CQ.	62
Esquema 5	Síntesis de análogos semirrígidos de la CQ.	63
Esquema 6	Síntesis de 4-(pirrol-1-il) aminoquinolina.	64
Esquema 7	Síntesis de los derivados quinolina-metanol.	65
Esquema 8	Síntesis de las 2-arilquinolinas con posible actividad leishmanicida y citotóxica.	67
Esquema 9	Síntesis de los derivados 7-cloro-4-quinolinilhidrazona-heteroaromáticos.	68
Esquema 10	Síntesis de los derivados 2-(1H-indol-3-il)quinolina-3-carbonitrilos.	69
Esquema 11	Síntesis de los derivados 2-(1H-indol-3-il)quinolina-3-carbonitrilos.	69

	Página
Esquema 12 Síntesis de los derivados 2-(1H-indol-3-il)quinolina-3-carbonitrilos.	70
Esquema 13 Síntesis de derivados de la Criptolepina.	71
Esquema 14 Estrategia propuesta para la síntesis de los derivados 7-Cloroquinolina-4-sustituídos 4, 5, 6, 7 y 8.	88
Esquema 15 Estrategia propuesta para la síntesis de los derivados 7-Cloroquinolina-4-sustituídos 11.	89
Esquema 16 Mecanismo propuesto para la formación de los intermediarios 2 y 3.	93
Esquema 17 Mecanismo propuesto para la condensación Claisen-Schmidt.	98
Esquema 18 Mecanismo propuesto para la ciclocondensación con hidrazina.	106

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Distribución Mundial de la Malaria causada por <i>P. falciparum</i> resistente a fármacos.	30
Tabla 2	Efecto de los derivados 4 y 5 sobre la inhibición de la formación de la β -hematina.	114
Tabla 3	Efecto de los derivados tipo 6 , 7 y del compuesto 9d , sobre la inhibición de la formación de la β -hematina.	116
Tabla 4	Resultados de la Prueba de Peters de los derivados 4e , 6e , 5g y 7g . Días de sobrevivencia de los ratones post-infección (DSPI). Parasitemias al 4 ^{to} día post-infección (% P).	118
Tabla 5	Efecto de los derivados (<i>E</i>)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (4) sobre la proliferación de las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL60.	122
Tabla 6	Efecto de los derivados (<i>E</i>)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (4) sobre la proliferación de las líneas celulares A549 y MCF-7.	124
Tabla 7	Efecto de los derivados (<i>E</i>)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (5) sobre la proliferación de las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL60.	125
Tabla 8	Efecto de los derivados (<i>E</i>)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (5) sobre la proliferación de las líneas celulares A549 y MCF-7.	126

		Página
Tabla 9	Efecto de los derivados 7-cloro- <i>N</i> -(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenil sustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (6 y 7) y del derivado 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)propan-1-ona, 9d , sobre la proliferación de las líneas celulares Jurkat E.1 y HL60.	128
Tabla 10	Efecto de los derivados (<i>E</i>)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (4 y 5), 7-cloro- <i>N</i> -(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituidos)-1H-pirazol-3-il)fenil) quinolin-4-amina (6 y 7) seleccionados y del compuesto 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)propan-1-ona, 9d , sobre la viabilidad de los linfocitos humanos normales obtenidos de sangre periférica. Las células fueron tratadas con concentraciones crecientes de los compuestos por 24h.	129
Tabla 11	Índice de Selectividad de los derivados 7-cloroquinolina-4-sustituidos seleccionados.	130
Tabla 12	Resultados obtenidos después del tratamiento de las células Jurkat E6.1 con los derivados 4 y 5 seleccionados.	137
Tabla 13	Resultados obtenidos después del tratamiento de las células HL60 con los derivados 4 y 5 seleccionados.	138
Tabla 14	Resultados obtenidos después del tratamiento de las células MCF-7 con los derivados 4 y 5 seleccionados.	139
Tabla 15	Resultados obtenidos después del tratamiento de las células A549 con los derivados 4 y 5 seleccionados.	140

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la síntesis y la evaluación de la posible actividad Antimalárica y Antineoplásica de una serie de derivados 7-cloroquinolina-4-sustituídos. La estrategia empleada para la síntesis comienza con la obtención de los intermediarios clave 1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanonas (**2** y **3**) mediante una sustitución nucleofílica aromática entre la 4,7-dicloroquinolina y la 3 y/o 4-amino acetofenona. Los derivados (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituído)prop-2-eno-1-ona (**4** y **5**), se sintetizaron a través de una condensación aldólica de Claisen-Schmidt entre los intermediarios clave y diferentes benzaldehídos sustituidos. Los derivados 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituído)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** y **7**) y los 1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituído)propano-1-ona (**8** y **9**) se diseñaron por modificación molecular de la cetona α,β -insaturada de los compuestos finales **4** y **5**, (metodología clásica de la Química Medicinal) para obtener dichos derivados rígidos **6** y **7**, mediante la formación de un anillo Δ^2 -pirazolina y flexibles **8** y **9**, a través de su reducción. La síntesis de los derivados **6** y **7** se realizó mediante una reacción de ciclo-condensación con hidrazina monohidratada y los derivados **8** y **9**, se obtuvieron a través de una hidrogenación catalítica. En la evaluación de la actividad Antimalárica *in vitro* se evidenció que los derivados **4**, **5**, **6** y **7**, mostraron actividades inhibitorias la formación de la β hematina importantes (superior al 70 %), siendo los más activos: **4l**, **5g**, **5c**, **5g** y **6e**, **6f** con valores comparable al de la CQ. En la evaluación Antimalárica *in vivo* se encontró que el derivado **4e** fue el más activo con 26,4 días de sobrevivencia post-infección (230 % de incremento) y una parasitemia de 2,4 % (96 % de reducción). Con respecto a los resultados obtenidos en el efecto de estos derivados sobre la viabilidad y proliferación de las líneas celulares neoplásicas Jurkat E6.1, HL60, MCF-7 y A549, los compuestos **4a**, **4g**, **4l**, **4m** y **6e** mostraron la mayor actividad inhibitoria del crecimiento de las células leucémicas HL60 después de 24h de tratamiento con valores de CI_{50} de 1,19 μ M, 1,08 μ M, 0,59 μ M, 0,43 μ M y 0,94 μ M (hasta 3 y 100 veces más activos que la doxorubicina y que la CQ, respectivamente). En lo referente a la evaluación de la actividad proapoptótica en las líneas celulares neoplásicas Jurkat E6.1, HL60, MCF-7 y A549, se evidenció que los derivados **4**, **5** y **6**, al igual que los controles, generaron un aumento en el porcentaje de células positivas para la Anexina V/FITC dependiente de la dosis (apoptosis temprana y tardía). Ninguno de estos derivados indujo el proceso de necrosis en estas células.

ABSTRACT

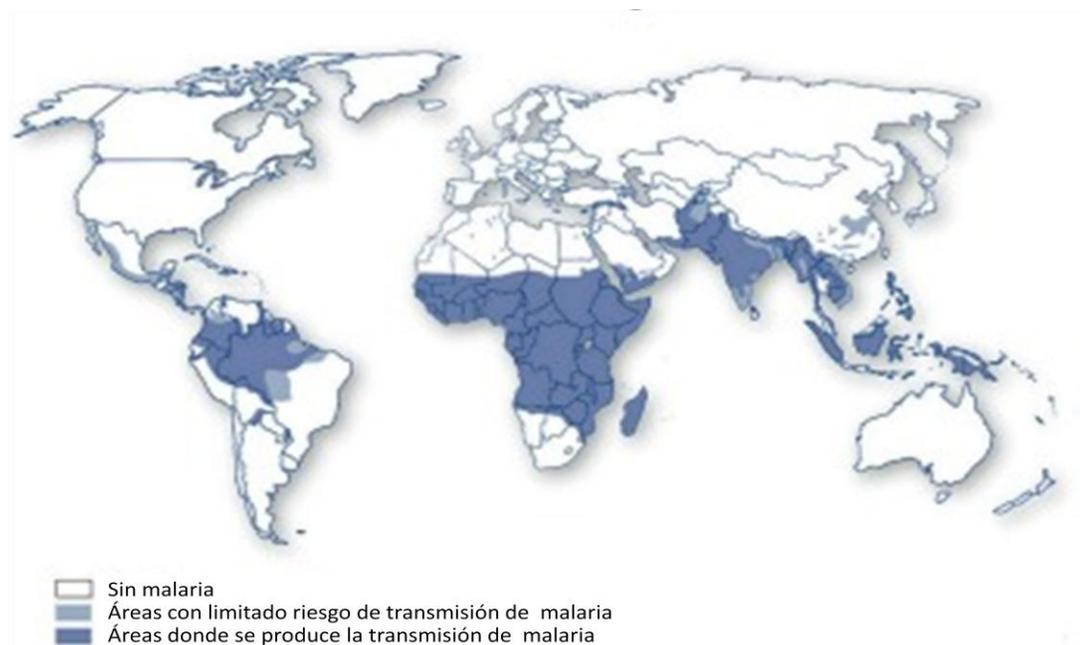
The present investigation describes the synthesis and evaluation of the Antimalarial and Antineoplastic activity possible a series of derivatives of 7-substituted-4-chloro-quinoline. The strategy employed for the synthesis begins with preparation of the key intermediate 1-(3 or 4-(7-chloroquinolin-4-ylamino) phenyl)ethanone (**2** and **3**) by a nucleophilic aromatic substitution between 4,7-dichloroquinoline and the 3 and/or 4-amino acetophenone. The derivatives (*E*)-1-(3 or 4-(7-chloroquinolin-4-ylamino) phenyl)-3-(substitutedphenyl)prop-2-en-1-one (**4** and **5**), were synthesized a through aldol condensation Claisen-Schmidt among different key intermediates and substituted benzaldehydes. The resulting 7-chloro-*N*-(3 or 4-(4,5-dihydro-5-(substitutedphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)phenyl)quinolin-4-amine (**6** and **7**) and 7-chloro-4-[(3 or 4-(substituted phenyl)ethylcarbonyl)phenyl]aminoquinoline (**8** and **9**) were designed for the molecular modification α , β -unsaturated ketone of the final compounds **4** and **5** (classic methodology Medicinal Chemistry) for said rigid derivatives **6** and **7**, through the formation of a Δ^2 -pyrazoline ring flexible and **8** and **9**, through its reduction. The synthesis of derivatives **6** and **7** were performed using a cycle-condensation reaction with hydrazine monohydrate and **8** and **9** derivatives were obtained via a catalytic hydrogenation. In the assessment of antimalarial activity in vitro was demonstrated that derivatives **4**, **5**, **6** and **7** showed inhibitory activities β forming the major hemozoin (above 70%), being more active: **4l**, **5g**, **5c**, **5g**, **6e** and **6f**, with values comparable to that of CQ. *In vivo* antimalarial evaluation found that the derivative **4e** was most active with survival 26.4 days post-infection (230 % increase) and a parasitemia of 2.4 % (96 % reduction). With regard to the results on the effect of these derivatives on the viability and proliferation of neoplastic cell lines Jurkat E6.1, HL60, MCF-7 and A549, compounds **4a**, **4g**, **4l**, **4m** and **6e** show greater activity growth inhibitory HL60 leukemia cells after 24 h of treatment with IC₅₀ values of 1.19 μ M, 1.08 μ M, 0.59 μ M, 0.43 μ M and 0.94 μ M (to 3 and 100 times more active than doxorubicin and the CQ, respectively). Regarding the evaluation of pro-apoptotic activity on neoplastic cell lines Jurkat E6.1, HL60, MCF-7 and A549, was demonstrated that derivatives **4**, **5** and **6**, like the controls, an increase in generated percentage of cells positive for Annexin V/FITC dose dependent (early and late apoptosis). None of these derivatives induced necrosis process in these cells.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, la enfermedad del sueño africana y la leishmaniasis entre otras enfermedades causadas por protozoarios en humanos y animales continúan teniendo un impacto devastador alrededor del mundo, sin embargo ninguna de estas enfermedades ha tenido la enorme repercusión sobre la civilización, tanto históricamente como en tiempos modernos como el paludismo o malaria¹. Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) señalan que 3.3 millones de personas estaban en riesgo de malaria en 2010, aunque de todas las regiones geográficas, los habitantes del África subsahariana son los que tienen el mayor riesgo de adquirir malaria. En el año 2010, el 81% de los casos y el 91% de las muertes se produjeron en esta región, los niños menores de cinco años de edad y las mujeres embarazadas fueron los más afectados². En la actualidad 3200 millones de personas viven en 107 países y territorios con riesgo de transmisión de malaria (Figura 1)³.

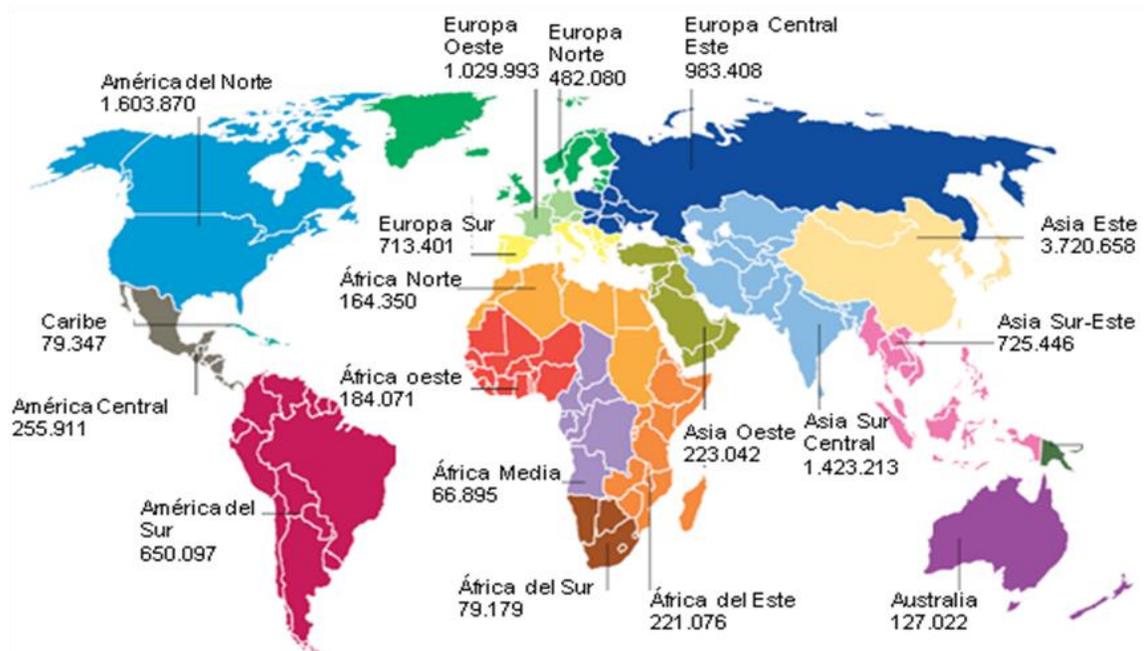
Figura 1. Ciudades o áreas con riesgo de transmisión de malaria 2010³.



En contraparte a las parasitosis que tienen su gran aliado en la pobreza, el cáncer es la segunda causa de muerte en los países desarrollados con tendencia a convertirse en la primera, uno de los tratamientos de esta enfermedad consiste en la quimioterapia, si bien con resultados francamente limitados, ya que el índice de curaciones es inferior al 10%⁴.

La OMS estimó que 12.66 millones de personas fueron diagnosticadas con cáncer en todo el mundo en el año 2008, y 7,56 millones de personas murieron a causa de la enfermedad. Como la población mundial sigue creciendo, la carga de cáncer en el mundo aumentará de forma inevitable, incluso si las tasas actuales de incidencia siguen siendo los mismos. Las Naciones Unidas en reunión de alto nivel en septiembre de 2011 ofreció una gran oportunidad en la lucha mundial contra el cáncer y otras enfermedades no transmisibles (Figura 2)⁵.

Figura 2. Incidencia del Cáncer alrededor del Mundo.



Las enfermedades tropicales producidas por parásitos unicelulares y los diferentes tipos de cáncer que atacan a la población mundial, se consideran la causa de enormes pérdidas en vidas humanas y los elevadísimos costos económicos debido a su morbilidad.

1.1. MALARIA O PALUDISMO

La Malaria conjuntamente con otras enfermedades causadas por parásitos patógenos es hoy en día considerada como una Enfermedad Tropical Desatendida (NTD) por sus siglas en inglés de Neglected Tropical Diseases. Estas enfermedades no tienen una alta visibilidad en las sociedades occidentales; su denominación también está relacionada al hecho de que ellas a menudo son desatendidas u omitidas en las agendas de salud y presupuesto así como de plano en las investigaciones y desarrollo a pesar de que ellas son padecidas por un billón de personas alrededor del mundo y de lo inapropiado de los fármacos disponibles, los cuales tienen problemas de seguridad, administración, costo e incremento de la resistencia⁶.

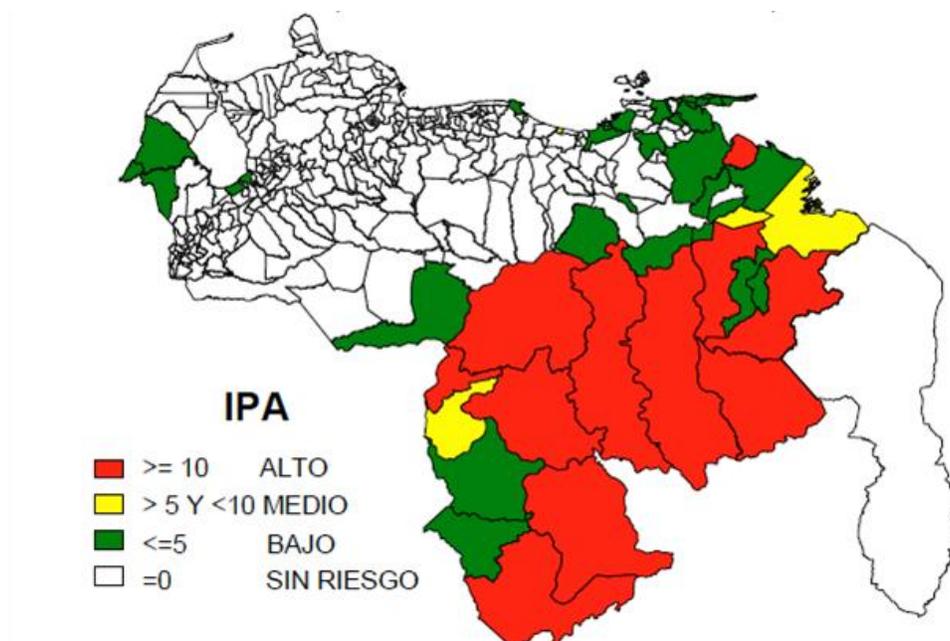
1.1.1. MALARIA EN LAS AMÉRICAS

En el caso del continente Americano hay transmisión de malaria en nueve países de la región que comparten la selva amazónica, incluyendo Venezuela, y en ocho países de América Central y del Caribe, los desplazamientos de población asociados a la explotación de minas de oro y bosques han provocado epidemias aisladas. Todos los países afectados recurren al rociamiento de acción residual y/o la aplicación de larvicidas en zonas de riesgo focalizadas, las estrategias de control de nueve países incluyen la distribución de mosquiteros tratados con insecticidas. Teniendo en cuenta la resistencia demostrada a fármacos antimaláricos ocho de los nueve países amazónicos han modificado

recientemente sus políticas farmacéuticas para tratar la malaria con terapias combinadas⁷.

En el caso de Venezuela, la malaria llegó a afectar un tercio de la población en los años treinta, en 1936, se creó la Dirección Nacional de Malariología y Saneamiento Ambiental, el Dr. Arnoldo Gabaldón y su equipo logró con diferentes acciones erradicar la Malaria en 460.397 Km² del territorio nacional. Actualmente la transmisión malárica en Venezuela se localiza en tres focos que ocupan 23 % del territorio nacional: el *foco oriental* representado por los estados Monagas, Sucre, Anzoátegui y la parte occidental de Delta Amacuro; el *foco occidental* que incluye los estados Barinas, Mérida, Portuguesa, la parte occidental de Apure, Yaracuy, Zulia, Trujillo y Táchira, y el *foco meridional* conformado por los estados Bolívar, Amazonas y parte oriental de Apure y Delta Amacuro, este último es el que tiene el índice parasitario anual más elevado⁸ (Figura N° 3)⁹.

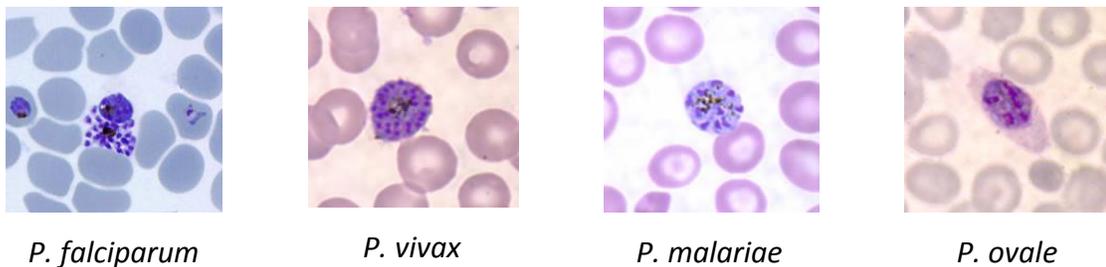
Figura 3. Áreas de riesgo de malaria: Municipios según el Índice Parasitológico Anual (IPA), Venezuela hasta la semana Epidemiológica 14, año 2010.



1.1.2. AGENTE CAUSAL O ETIOLÓGICO DE LA MALARIA

La malaria en humanos es causada por más de cuatro especies del protozoo intracelular *Plasmodium* (*P.*), estas cuatro especies infectantes para el hombre son: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*, ellos difieren en la distribución geográfica, apariencia microscópica, rasgos clínicos (periodicidad de infección, severidad de la enfermedad, habilidad para causar recaídas, entre otras), y potencial para desarrollar resistencia hacia los fármacos antimaláricos (Figura 4)¹⁰.

Figura 4. Especies de *Plasmodium* infectantes para el hombre.



El *P. falciparum* es el causante de la malaria terciaria maligna, es el más letal, se encuentran concentraciones enormemente altas de este protozoo en la sangre de los hospedadores infectados, con más de un 65% de eritrocitos afectados. El *P. vivax* es el causante de la malaria terciaria por que los síntomas clínicos aparecen cada 48 horas, no produce muchos merozoitos como el *P. falciparum*, pero puede retener nuevas células en hígado que son las causantes de formar los esquizontes secundarios, los cuales pueden causar recaídas años después. El *P. malariae* es el responsable de la malaria cuartana. El *P. ovale* es el que causa la menos común de los cuatro tipos de malaria y es similar al *P. vivax* y al *P. malariae* y la más benigna¹¹.

Estos protozoos pasan la mitad de su ciclo de vida en mosquitos *Anopheles* hembras y la otra mitad en el hospedador humano, donde sufren varios cambios morfológicos, la velocidad con que ocurren estos cambios varía de acuerdo a la especie infectante. El paciente generalmente no tiene síntomas adversos hasta la ruptura de los eritrocitos (aproximadamente 1,5 a 2 semanas después de la picada inicial) mediante lo cual se liberan residuos antigénicos celulares y desechos del protozoario, ocasionando: 1. Ataques recurrentes de náuseas, vómitos, resfriado severo, delirio y fiebre alta (38-40 °C), cada 3 o 4 días. 2. Anemia severa y trombocitopenia por hemólisis de los eritrocitos dependiendo del número de merozoitos producidos. 3. Ictericia por el exceso de bilirrubina producida¹¹.

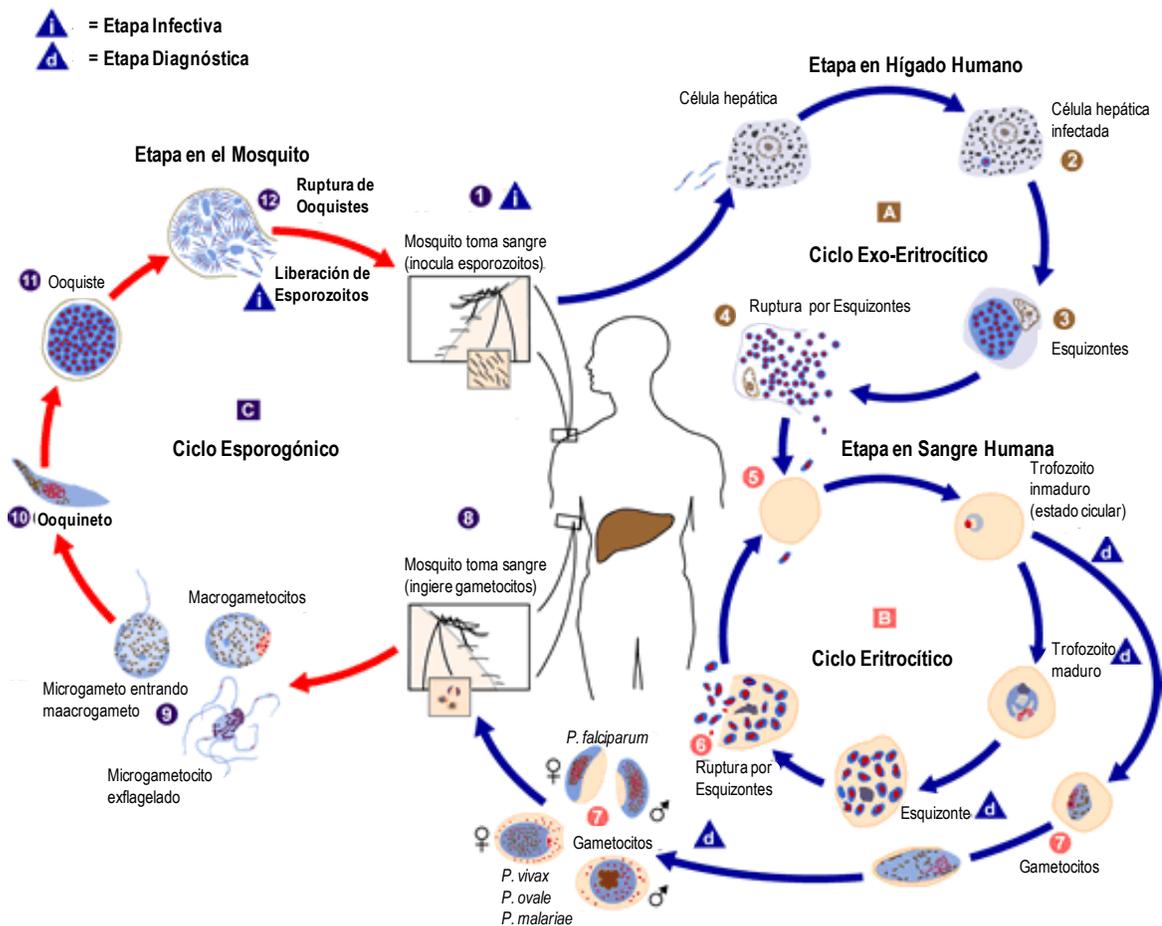
CICLO EVOLUTIVO DEL *PLASMODIUM*

El ciclo de vida del parásito de la malaria comprende la reproducción esquizogónica o asexual en el hombre y la reproducción esporogónica o sexual en el mosquito. Cuando un mosquito *Anopheles* hembra se alimenta de sangre, inocula esporozoitos en el hospedador humano ①. Los esporozoitos infectan las células del hígado ② y maduran en esquizontes ③, que se rompen y liberan merozoitos ④, es de hacer notar que, en *P. vivax* y *P. ovale* puede persistir un estadio dominante en el hígado (hipnozoito) y causa recaídas por invasión semanal de la sangre circulante, o incluso años después. Seguido de esta replicación inicial en el hígado (esquizogonia exo-eritrocítica **A**), el parásito sufre una multiplicación asexual en los eritrocitos (esquizogonia eritrocítica **B**). Los merozoitos infectan las células rojas de la sangre ⑤. El estadio de trofozoito circular madura en esquizontes, el cual se rompe y libera los merozoitos ⑥. Algunos parásitos se diferencian en estadios eritrocíticos sexuales (gametocitos) ⑦. Los estadios del parásito sanguíneo son los responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad¹².

Los gametocitos, machos (microgametocitos) y hembras (macrogametocitos), son ingeridos por un mosquito *Anopheles* durante su alimentación con sangre ⑧. La multiplicación de los parásitos en el mosquito se conoce como ciclo esporogónico **C**.

Mientras que en el estómago del mosquito, los microgametos penetran los macrogametos generando cigotos 9. Los cigotos se transforman en móviles y alargados (oocinetos) 10 invaden las paredes del intestino medio del mosquito donde ellos se convierten en oocistos 11. Los oocistos crecen, se rompen, y liberan esporozoitos 12, que emigran hacia las glándulas salivales del mosquito. La inoculación de esporozoitos en nuevos hospedadores humanos perpetúa el ciclo de vida de la malaria 1 (Figura 5)¹².

Figura 5. Ciclo evolutivo del *Plasmodium*.

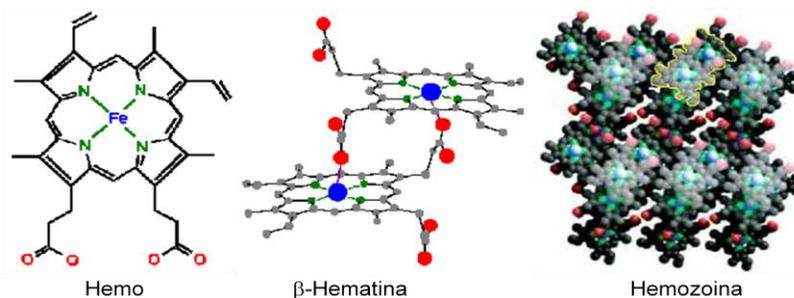


BIOQUIMICA DEL *PLASMODIUM*

Los organismos para crecer y reproducirse requieren altos niveles de macromoléculas y otras sustancias bioquímicas para el mantenimiento de su estructura y función celular, el parásito de la malaria, como todo organismo no se escapa de este hecho, el debe adquirir nutrientes del medio ambiente y convertirlos en otras moléculas o de energía (catabolismo), estas moléculas y la energía las utiliza para mantener su homeostasis y para su crecimiento reproducción (anabolismo).

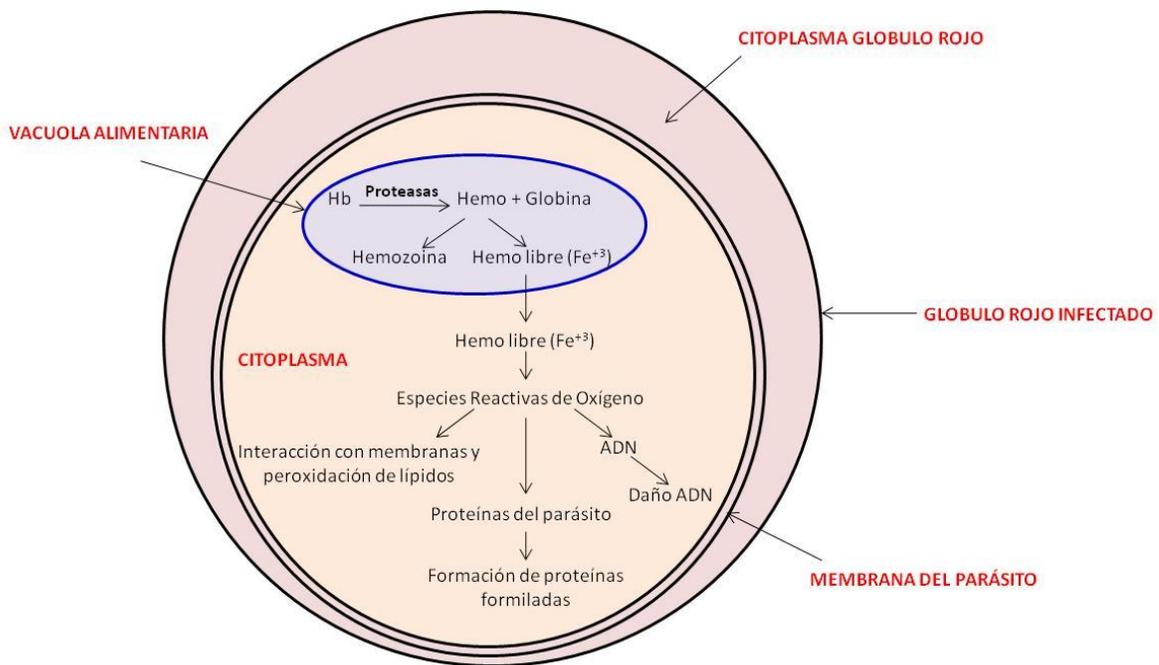
El parásito de la malaria requiere de aminoácidos para la síntesis de sus proteínas, la fuente principal de éstos es la hemoglobina (Hb) presente en los eritrocitos del hospedador, a medida que él madura dentro del eritrocito invadido, digiere una gran cantidad de Hb dentro de su vacuola. Dicha degradación se inicia con la proteasa aspartica I y continua con la proteasa aspartica II originando el grupo hemo o ferriprotoporfirina IX (FPIX) y la proteína globina. La globina rápidamente es degradada por la proteasa cisteínica (falcipaina) en péptidos pequeños y aminoácidos¹³. El *P.* es incapaz de seguir degradando el hemo libre, éste compuesto no degradado es tóxico para él, por lo cual ha desarrollado un mecanismo para su detoxificación que consiste en la polimerización del hemo libre para originar un dímero conocido como β -hematina, el cual que se biocristaliza o biopolimeriza formando una sustancia insoluble conocida con el nombre de hemozoina o pigmento malárico¹⁴ (Figura 6).

Figura 6. Estructura de Hemo, β -Hematina y Hemozoina.



Si el parásito no elimina el grupo hemo (Fe^{+3}) liberado, su concentración en la vacuola alimentaria sería en el orden de 300 a 500 mM, lo cual resultaría muy tóxico, ya que puede generar especies reactivas de oxígeno e inducir el estrés oxidativo que conduce a su muerte. De igual manera el hemo (Fe^{+3}) libre es una molécula lipofílica que puede intercalarse fácilmente en la membrana del parásito, causar cambios en su permeabilidad, en la organización de sus lípidos e inducir la peroxidación de los mismos, promover la lisis celular y finalmente la muerte del parásito (Figura 7)¹⁵.

Figura 7. Posibles mecanismos de toxicidad del Hemo libre (Fe^{+3}) en el *Plasmodium*.



El ciclo de vida único y el microambiente resultante de esta parasitosis ha llevado a la evolución de las rutas metabólicas que difieren de las del hospedador humano, por consiguiente la explotación de estas vías exclusivas y las enzimas proporcionan blancos terapéuticos útiles para el diseño de estrategias.

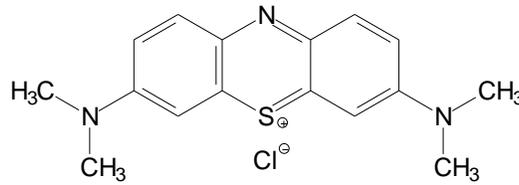
1.1.3. QUIMIOTERAPIA ANTIMALÁRICA

El uso de fármacos antimaláricos se remonta a los comienzos de los años 1600, cuando gracias a las observaciones de los primeros misioneros jesuitas españoles, se descubrió que las infusiones en agua de la corteza de un árbol de montaña llamado quinquina, denominado después Cinchona por Francisco Henríquez de Rivera (1576-1639) era efectiva para el tratamiento de la “terciana aguda”, un estado febril muy común en el trópico de Sudamérica y América Central, el primer reporte de su uso en Sudamérica fue en 1630 y en Europa en 1639, así comienza la primera era de la quimioterapia de la malaria, esto fue listado en la Farmacopea Inglesa de 1677¹⁶.

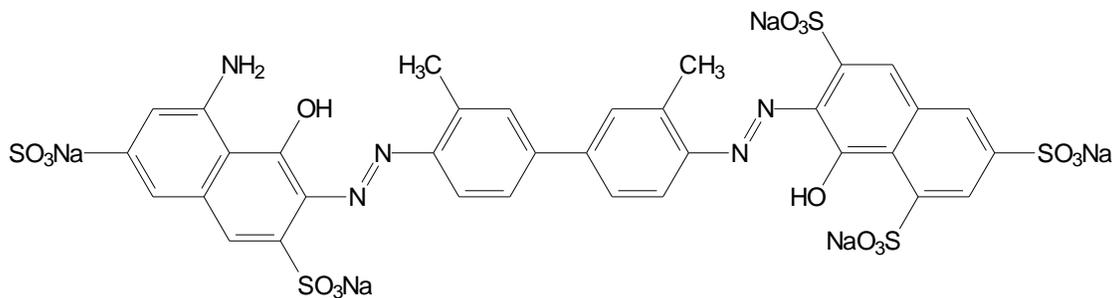
A finales de los años 1800 la industria alemana de colorantes produjo cientos de estos nuevos compuestos, Erlich, quien fue considerado como el fundador de la Química Medicinal moderna, la Quimioterapia y la Farmacología Molecular, fue el primero que trabajó sobre las propiedades biológicas de estos colorantes sobre las células sanguíneas, demostrando el teñido específico de ciertas partes de los leucocitos, lo que es la base de la hematología moderna, microorganismos patógenos pueden también ser teñidos específicamente, y en algunos casos eliminados sin dañar al hospedador. El equipo investigador del laboratorio de Erlich se enfocó primero en el protozoo de la malaria utilizando Azul de Metileno y colorantes relacionados, de esta manera se originó el primer antimalárico sintético, Rojo de Tripan, el cual no tuvo la potencia necesaria para ser efectivo en la cura de humanos (Figura 8)¹⁷.

Siguiendo en este mismo camino de desarrollo de fármacos antimaláricos, las necesidades de la guerra proporcionaron un gran estímulo, durante 1941 a 1946 en los Estados Unidos, Australia e Inglaterra, se sintetizaron y se evaluaron como posibles agentes antimaláricos más de 15.000 compuestos; esta actividad se incrementó durante la guerra de Vietnam, especialmente por la aparición del problema de la resistencia a los fármacos antimaláricos utilizados comúnmente¹.

Figura 8. Estructura de los colorantes utilizados como antimaláricos.



Azul de Metileno (1885)



Rojo de Tripán (1905)

CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

Los fármacos antimaláricos se clasifican de acuerdo al estado del parásito que ellos afectan y la indicación clínica para su uso, algunos presentan más de un tipo de actividad:

1. Fármacos usados en la profilaxis causal: Estos agentes actúan sobre las *formas tisulares primarias del P.*, dentro del hígado, que en término de un mes o menos inician la etapa eritrocítica, de este modo evitan la invasión de los glóbulos rojos y la transmisión persistente de la infección.

2. Fármacos usados en la prevención de las recaídas: Estos compuestos actúan sobre las *formas hícticas latentes del P. vivax* y del *P. ovale* que permanecen remanentes después que las formas hepáticas primarias han sido liberadas en la circulación. Estas

formas tisulares latentes eventualmente maduran, migran a la circulación y producen ataques maláricos, reapareciendo la malaria, meses o años después de la infección inicial.

3. Esquizonticidas Sanguíneos o Hemáticos: Estos fármacos actúan en las etapas eritrocíticas asexuales de los parásitos de la malaria para interrumpir la esquizogonia eritrocítica, también pueden producir cura supresiva debido a la eliminación completa de los parásitos del organismo.

4. Gametocidas: Estos compuestos actúan contra las formas eritrocíticas sexuales del parásito evitando la transmisión de la malaria a los mosquitos.

5. Esporonticidas: Estos compuestos anulan la transmisión de la malaria al inhibir la formación de oocitos y esporozoitos en mosquitos infectados, en la actualidad no se conocen fármacos de este tipo¹⁸.

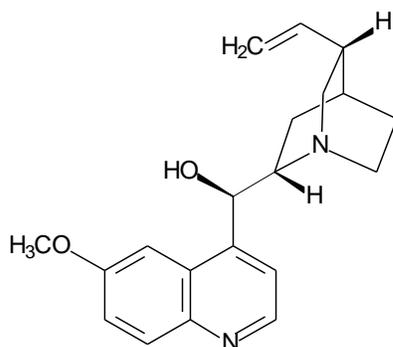
FÁRMACOS DISPONIBLES PARA EL TRATAMIENTO DE LA MALARIA

En la actualidad hay solamente un limitado número de fármacos que son utilizados para tratar y prevenir la malaria, entre los más importantes se encuentran:

1. Alcaloides de la Quina: Los españoles encontraron en el siglo XVII que los nativos de Sur América, usaban la corteza de la Cinchona pulverizada para el tratamiento de la fiebre y llevaron estas cortezas para Europa. Los alcaloides de la Quina fueron aislados de la corteza en 1820 por Caventou y Pelletieri y su estructura fue determinada alrededor de un siglo después (1949). La quinina es el principal alcaloide obtenido de la corteza del árbol de la Cinchona (*Cinchona officinalis* y otros híbridos), es un compuesto levorotatorio, su diateroisómero dextro rotatorio Quinidina, obtenido de la misma corteza se usa principalmente como antiarrítmico cardíaco. Los árboles de Cinchona son cultivados en la isla de Java, Indonesia, tienen un alto contenido de alcaloides en su corteza, 7-10%,

alrededor de las dos terceras partes de este total es Quinina. La estructura de la Quinina tiene dos “componentes”: la porción *quinolina*, la cual está unida en su posición 4' a la posición 8 del anillo de la quinuclidina por un puente metanol (Figura 9)¹⁹.

Figura 9. Estructura de la Quinina.

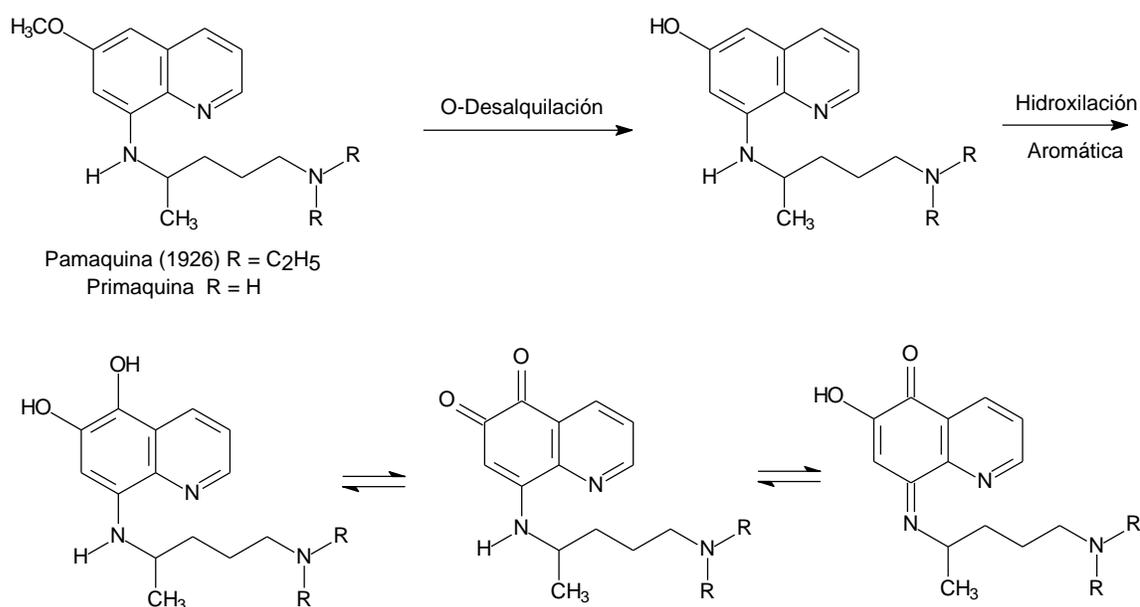


La estereoquímica de la quinina (-) 8*S*:9*R*, difiere de la quinidina (+) 8*R*:9*S*; los centros quirales C-4 y C-3 son los mismos. Por consiguiente los dos compuestos son diastereoisómeros no enantiómeros. El epímero C-9, solo el OH invertido, de ambos compuestos es inactivo. Los dos nitrógenos generan diferencias marcadas en la basicidad: p*K*_a del nitrógeno aromático (quinolina) = 4,6 y p*K*_a del nitrógeno alifático terciario (quinuclidina) = 8,8. El OH del C-9 parece ser indispensable para la actividad la oxidación o esterificación disminuye considerablemente la actividad del fármaco¹⁹. La quinina ha sido usada recientemente en el tratamiento de la malaria causada por *P. falciparum* resistente a cloroquina y se considera el fármaco de elección contra esta cepa²⁰.

2. Derivados de la 8-Aminoquinolina: La débil actividad contra el *P.* del azul de metileno, primero descubierto por Erlich en 1891, fue después explorado para desarrollar los antimaláricos 8-aminoquinolina, las investigaciones realizadas arrojaron como resultados que reemplazando un grupo metilo del azul de metileno por la función dialquilaminoalquil se intensificaba la actividad. Introduciendo tales grupos en el anillo de

la quinolina, particularmente aminoquinolina, originaron compuestos más activos; después de varias sustituciones dialquilaminoalquil 8-aminoquinolinas se obtuvo un compuesto más activo, la pamaquina, introducida en 1926. Después, mediante modificaciones estructurales se produce el derivado aminoalquil primario sin sustituir, primaquina, el cual tuvo una mayor actividad y una toxicidad considerablemente menor (Figura 10)¹⁹.

Figura 10. Derivados de la 8-Aminoquinolina y su activación metabólica.

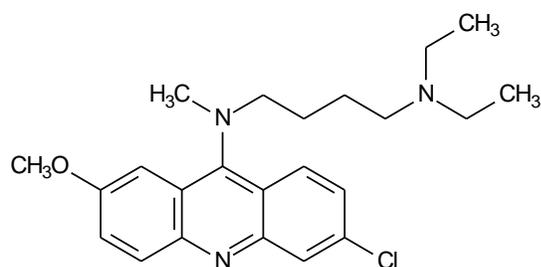


Experimentos realizados muestran que estos derivados son activos solamente *in vivo*, pero no *in vitro* y que los niveles plasmáticos no necesariamente se relacionan con los valores terapéuticos, debido a esto quedó establecido que estos compuestos, cuando son administrados, actúan como pro-fármacos; se determinó que los metabolitos *O*-demetilado-6-hidroxi y el hidroxilado adicional 5, 6-dihidroxi, se producían probablemente vía un equilibrio con estructuras tipo quinonas y constituyen las especies bioactivas, esto fue confirmado ya que estos metabolitos resultaron activos *in vitro*¹⁹.

Estos compuestos en contraste con otros antimaláricos, actúan en las etapas tisulares (exoeritrocítico) del *P. vivax* y *P. ovale* para prevenir y curar la malaria recidiva. En la actualidad solo se usa la primaquina, la cual fue ensayada extensivamente durante la guerra Corea, desafortunadamente la terapia con este fármaco causa hemólisis debida a la deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa¹⁸.

3. Derivados de la 9-Aminoacridina: Esta es otra clase química que jugó un papel importante en el desarrollo de los antimaláricos sintéticos, estos compuestos eran conocidos por su actividad antibacteriana, mientras que la quinacrina, sintetizada en 1934 si presentó actividad Antimalárica (Figura 11)²¹.

Figura 11. Estructura de la Quinacrina.



La quinacrina fue ampliamente usada a principios de 1940, su sal diclorhidrato es un polvo cristalino amargo de color amarillo, las soluciones de esta sal diclorhidrato no son estables y no deben ser guardadas, ella imparte un color amarillo temporal a la orina y a la piel que no debe confundirse con ictericia, entre los efectos tóxicos que produce se encuentra a nivel del sistema nervioso central tales como dolores de cabeza, convulsiones tipo epilépticas y psicosis momentáneas que pueden estar acompañadas de náuseas y vómitos, también pueden ocurrir alteraciones hematopoyéticas tales como anemia aplásica. Estos derivados actúan como esquizonticidas eritrocíticos en todas las clases de

malaria humana, ha mostrado también efectividad como gametocida en infecciones causadas por *P. vivax* y *P. malariae*¹⁰.

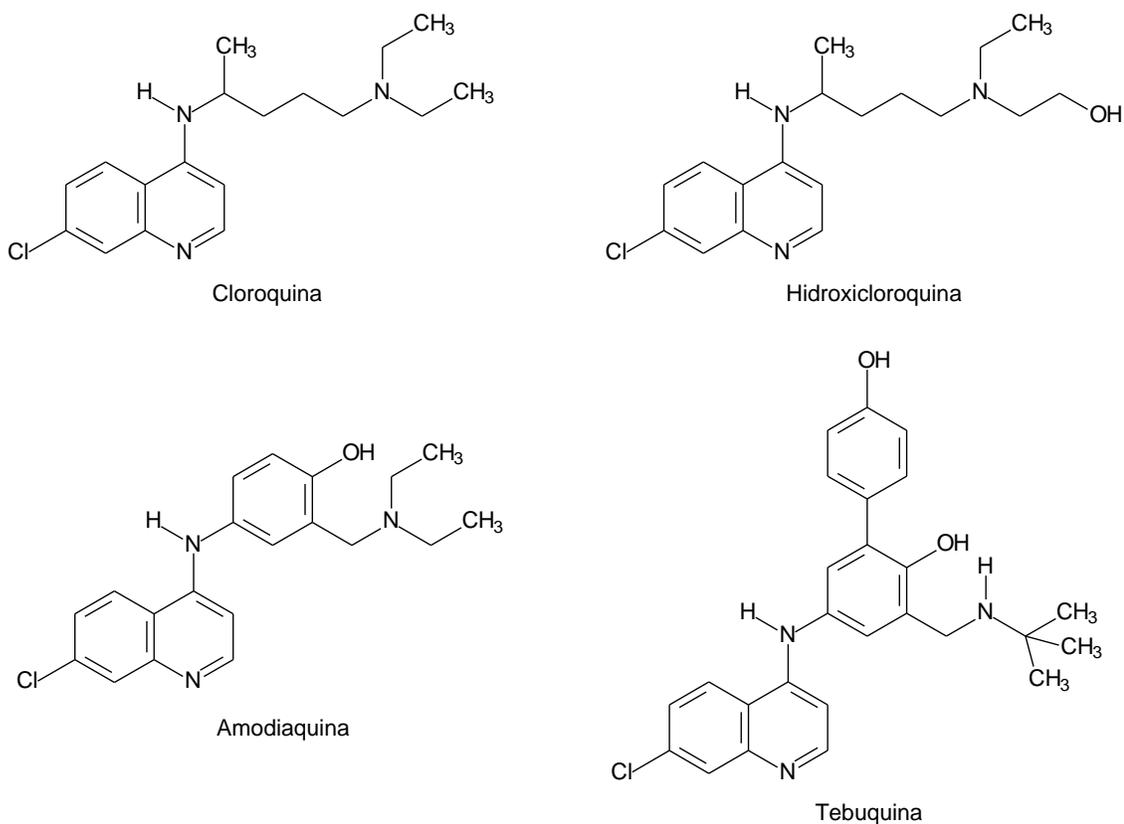
4. Derivados de la 4-Aminoquinolina: Estos compuestos son estructuralmente similares a la mitad derecha de la quinacrina, a diferencia de las 8-aminoquinolinas, pamaquina y primaquina, que retienen el núcleo metoxiquinolina de la quinina. Entre esta clase los cuatro compuestos que se pueden considerar principales son: cloroquina (CQ), hidroxicloroquina, amodiaquina y tebuquina¹⁸. Estos compuestos no solo presentan similitud estructural con la quinina y la quinacrina sino que también actúan mediante el mismo mecanismo de acción¹⁸. Ellos se administran por vía oral en forma de tabletas como sales de las aminas, si se presentan náuseas o vómitos después de la administración oral, se pueden administrar por vía parenteral¹⁰.

La CQ es indudablemente el mejor fármaco derivado de la 4-aminoquinolina que resultó de la intensa búsqueda llevada a cabo como parte del extensivo programa cooperativo de investigación en antimaláricos llevada a cabo en Estados Unidos durante la segunda guerra mundial a comienzos de 1943. Las formas *d*, *l* y *dl* de la cloroquina tienen igual potencia en la malaria, pero el isómero *d* es menos tóxico en los mamíferos que el isómero *l*, el átomo de cloro unido a la posición 7 de la quinolina le confiere una gran actividad antimalárica¹⁸.

La hidroxicloroquina es el derivado de la CQ en el cual uno de los sustituyentes *N*-etilo se ha β -hidroxilado, es básicamente equivalente a ella. El sulfato de hidroxicloroquina es un polvo cristalino blanco, inodoro pero amargo, es esencialmente usado como antimalárico, pero ha tenido más éxito que la CQ en el tratamiento y control de enfermedades del colágeno porque es menos tóxica a nivel ocular que ésta. La amodiaquina es otro congénere de la CQ, bajo la forma de clorhidrato es un polvo cristalino, amarillo, inodoro y amargo, es un antimalárico económicamente importante

debido a que su síntesis es mas económica que la de la CQ y es de tres a cuatro veces más activa que la quinina, es altamente útil infecciones causadas por *P. vivax* (Figura 12)¹⁰.

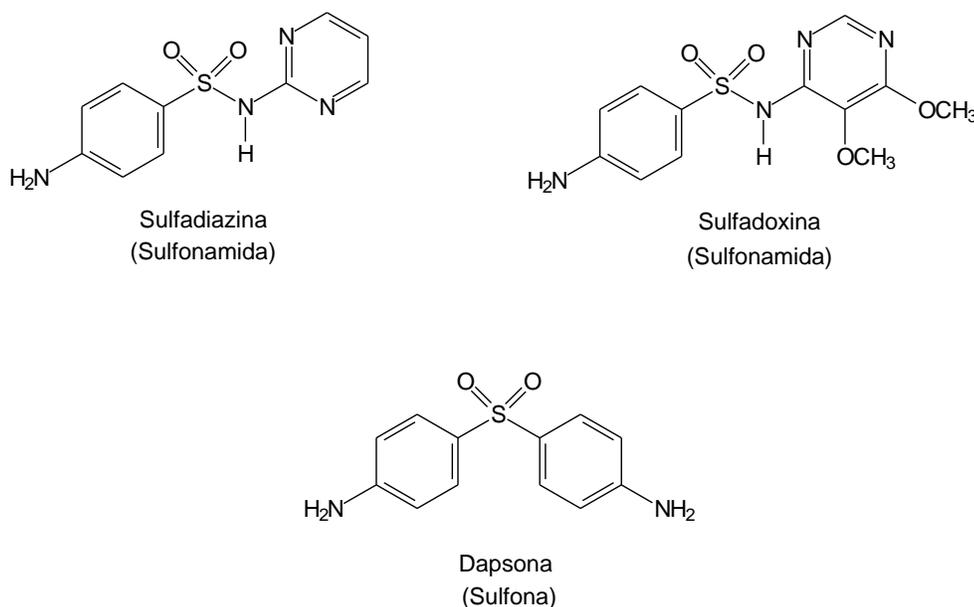
Figura 12. Derivados de la 4-Aminoquinolina.



5. Sulfonamidas y Sulfonas: Otros compuestos con actividad antimalárica son derivados de la sulfonamida y de la sulfona, su actividad antimalárica fue reportada en 1937. Después del descubrimiento del prontosil, un profármaco de la sulfanilamida, se investigaron muchos otros compuestos como antibacterianos y antimaláricos debido a su analogía estructural con el ácido para amino benzoico, substrato natural de la enzima dihidropteroato sintetetasa, entre los derivados sulfonamídicos que han sido utilizados clínicamente como antimaláricos se encuentran la sulfadiazina y la sulfadoxina. La utilidad

antimalárica de las sulfonas se remonta a la década de los cuarenta, época en la que la 4, 4'-diaminodifenilsulfona, dapsona, mostró ser activa contra varias especies de *P. causantes* de la malaria, sin embargo, fue considerado un fármaco inferior hasta que se descubrió que era efectivo como agente quimioproláctico contra las infecciones causadas por *P. falciparum* CQ resistente en el sureste de Asia (Figura 13)¹⁰.

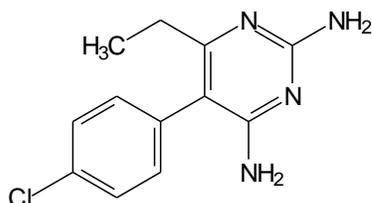
Figura 13. Estructura de las Sulfonamidas y las Sulfonas utilizadas como antimaláricas.



6. Diaminopirimidinas: Estos compuestos fueron objetos de un intenso estudio después de la observación hecha en la década de los 40 que algunas 2,4-diaminopirimidinas eran capaces de interferir con la utilización del ácido fólico por el *Lactobacillus casei*. Seguidamente, se prepararon un gran número de 2,4-diamino-5-fenilpirimidinas y se evaluó su actividad, la máxima actividad se observó cuando hay un grupo dador de electrones en la posición 6 del anillo de la pirimidina y cuando un átomo de cloro está presente en la posición *para* del anillo fenilo, la actividad disminuye si entre

los dos anillos se encuentra un átomo de oxígeno o carbono. El compuesto mas usado es la pirimetamina, desarrollada en la década de los 50 (Figura 14)¹⁰.

Figura 14. Estructura de la Pirimetamina.



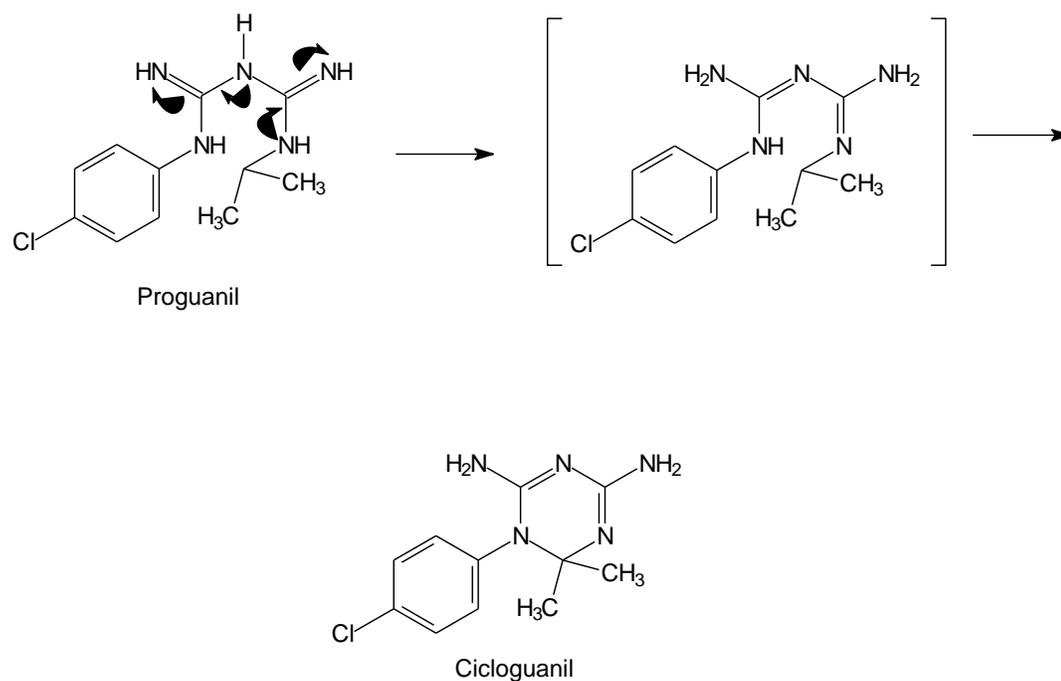
La pirimetamina es un esquizonticida eritrocítico efectivo contra todas las malarías humanas, también actúa como esquizonticida exoeritrocítico primario contra la mayoría de las infecciones. Se absorbe en del tractogastrointestinal lenta y completamente, se excreta lentamente a traves de la orina, principalmente la forma metabolizada. Una dosis única semanal de 25 mg es suficiente para la supresión del parásito, es poco tóxica relativamente, pero una sobredosis puede originar disminución del crecimiento celular por inhibición de la actividad del ácido fólico¹⁰.

7. Biguanidas y Dihidrotriazinas: Las biguanidas son compuestos que aunque presentan alguna actividd antimalárica ellas son en gran parte profármacos y sus metabolitos activos las dihidrotriazinas. Se han sintetizado numerosos agentes biguanidas y dihidrotriazinas antimaláricas, se han encontrado datos útiles de la relación estructura-actividad de estos compuestos, la sustitución de un halógeno en la posición *para* del anillo del fenil, incrementa significativamente la actividad. Las biguanidas se absoben rápidamente en el tracto gastrointestinal, pero más rapidamente que la CQ o la quinina, ellas se concentran en el hígado, pulmón, bazo y riñones, pero no atraviesan la barrera

hematoencefálica, de la cantidad presente en plasma, el 75% se une a proteínas, son metabolizadas y eliminadas rápidamente del organismo, por lo que requieren una frecuente administración a los pacientes¹⁰.

El principal representante de esta clase de compuestos es el proguanil o cloroguanil, fue descubierto en 1945 como un producto de las investigaciones en fármacos antimaláricos realizada por la British. La actividad antimalárica del proguanil fue atribuida al cicloguanil (Figura 15), un metabolito activo cíclico tipo triazina que mostró ser inhibidor bifuncional selectivo de la dihidrofolato reductasa-Tmidilato sintetasa del *P.*¹⁸.

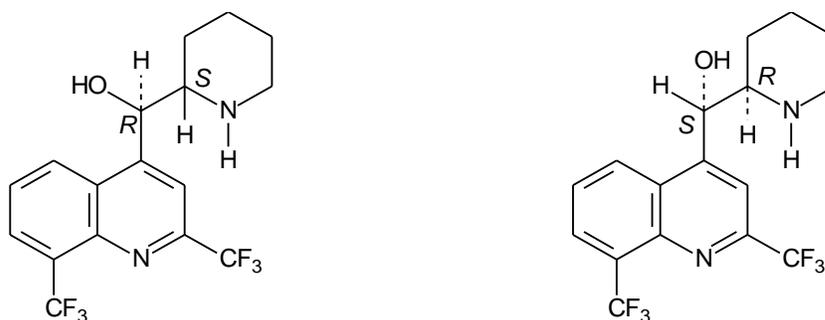
Figura 15. Bioactivación del Proguanil (Cloroguanil).



8. Derivados 4-Quinolinilmetanoles: Estos son considerados derivados “simplificados” de la quinina donde el anillo de la quinuclidina fue reemplazado por una piperidina¹⁹. De

los muchos derivados 4-quinolinilmetanoles ensayados basados en su similitud estructural con la quinina, la mefloquina es uno de los productos del Programa de Investigación en Malaria establecido en 1963 para el desarrollo de nuevos compuestos promisorios para combatir cepas emergentes de *P. falciparum* resistentes a los fármacos utilizados¹⁸. La mefloquina fue sintetizada con la intención de bloquear el sitio de metabolismo de la quinina colocándole en posición 2 de la quinolina el grupo trifluorometilo que es químicamente estable²². La mefloquina fue aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) en 1989, ahora es recomendada para uso oral exclusivamente para la profilaxis y tratamiento de la malaria causada por *P. falciparum* resistente a CQ o resistente a múltiples fármacos (Figura 16)¹⁸.

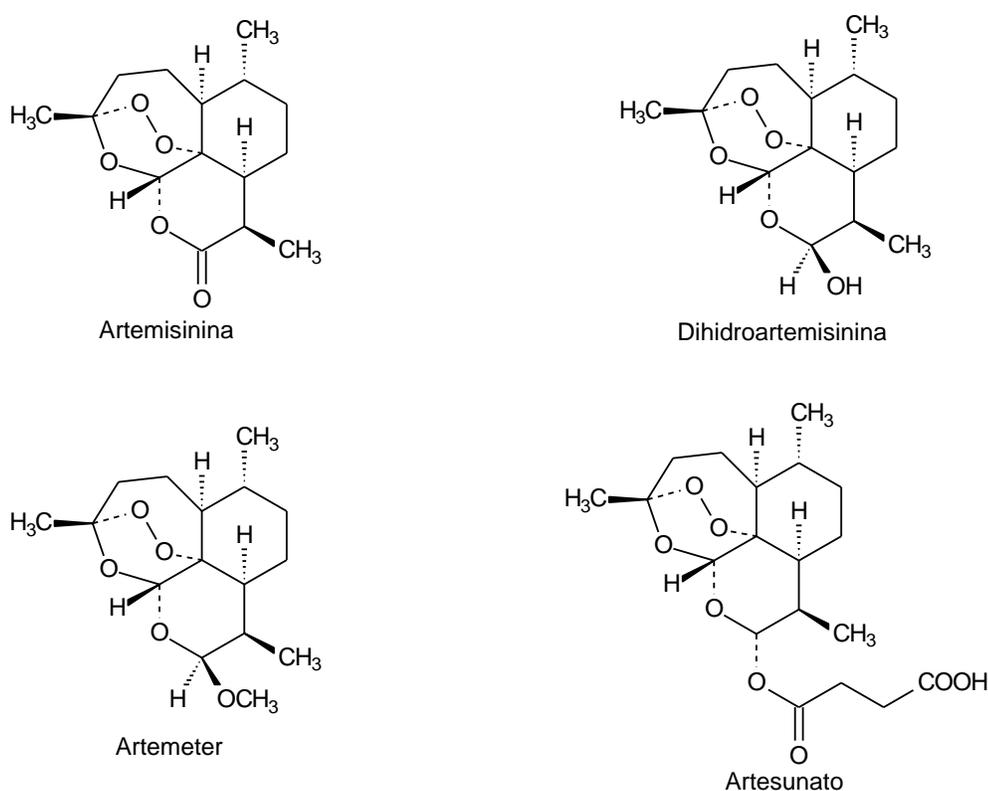
Figura 16. Estructura de la Mefloquina (mezcla racémica).



9. Artemisinina y análogos: Esta serie de derivados son los fármacos antimaláricos más nuevos y estructuralmente únicos comparados con los compuestos de uso corriente¹⁰. El compuesto modelo, artemisinina, una lactona sesquiterpénica que contiene un puente peróxido, obtenida de la hierba *qing hao* (*Artemisia annua*), también llamada ajeno dulce. La medicina herbal China reconoció el valor medicinal de esta planta desde hace más de 2000 años, pero fue en el año 1972 cuando científicos chinos extrajeron y cristalizaron el mayor ingrediente antimalárico y lo llamaron *ginghaosu*. Se sintetizaron

tres derivados con una potencia antimalárica mayor que la artemisinina, que son: la dihidroartemisinina, que es un producto reducido, el artemeter, que es el éster metílico liposoluble y el artesunato, que es la sal hemisuccinato de la dihidroartemisinina, soluble en agua (Figura 17)¹⁸.

Figura 17. Artemisinina y compuestos derivados.

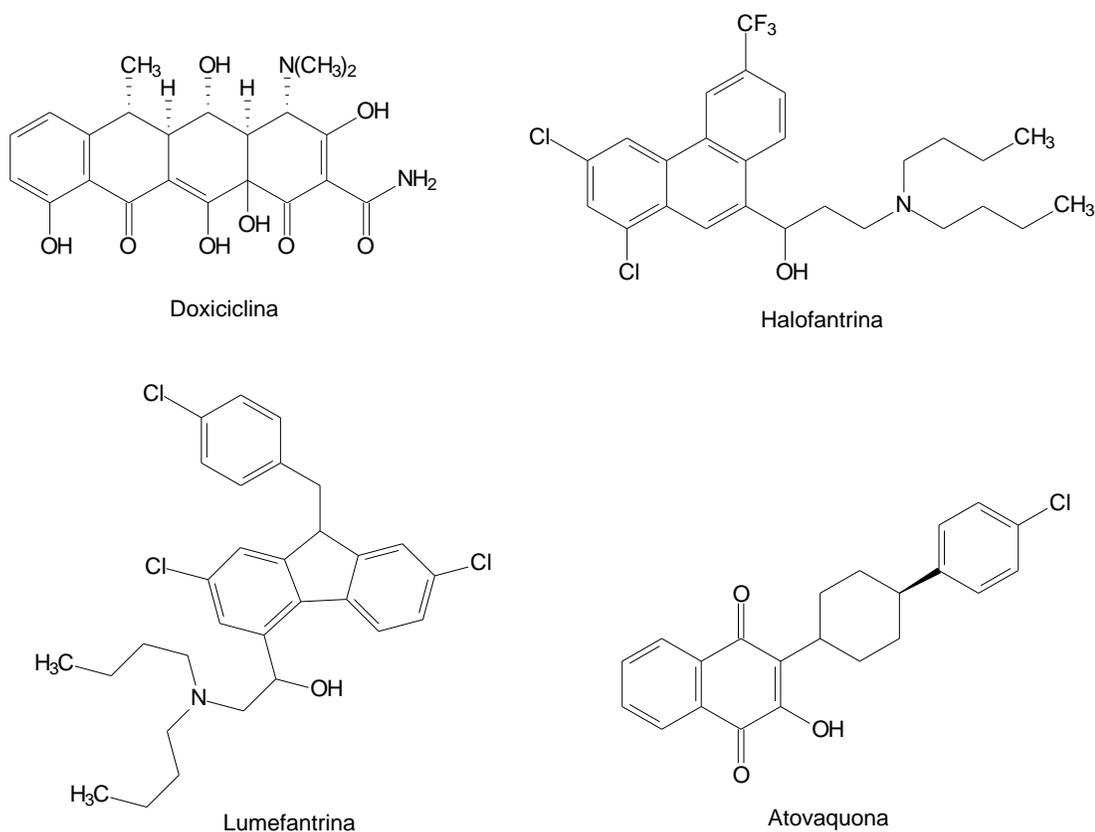


Estos fármacos actúan rápidamente, son efectivos y seguros para el tratamiento de pacientes con infecciones causadas por *P. vivax* y *P. falciparum*. Dichos endoperóxidos antimaláricos, especialmente cuando son usados conjuntamente con un esquizonticida sanguíneo de larga duración, tal como la mefloquina, representan el mayor avance para el tratamiento de la malaria severa resistente a multifármacos¹⁸. La estructura clave

característica para la actividad antimalárica, parece ser el “trioxano” constituido por el endoperóxido y el oxígeno doxepin¹⁰.

10. Derivados Policíclicos: Tres fármacos antimaláricos tienen en común que contienen sistemas de anillos policíclicos, como lo son: el antibiótico tipo tetraciclina, doxiciclina, un nuevo fármaco indicado para la malaria la halofantrina, el análogo estructural de la halfantina, la lumefantrina y la atovaquona (Figura 18)¹⁰.

Figura 18. Estructura de los Antimaláricos policíclicos.



La doxiciclina es un antibiótico empleado como antibacteriano que inhibe la síntesis de proteínas del patógeno mediante inhibición reversible de la subunidad 30S

ribosomal, las subunidades ribosomal de las bacterias y de los protozoos difieren significativamente de la de los mamíferos, este grupo de antibióticos no se unen a los ribosomas de los mamíferos y de esta manera muestra una buena toxicidad selectiva. A pesar de que la doxiciclina es un buen antibacteriano, su uso en malaria está limitado a la profilaxis contra cepas de *P. falciparum* resistente a CQ y a sulfadoxina-pirimetamina, este tratamiento no debe exceder más de cuatro meses, debido a que las tetraciclinas quelan el calcio e interfieren en el desarrollo de los dientes permanentes de los niños, también son fotosensibilizantes debería tenerse precaución en administrarla en zonas endémicas de malaria donde haga mucho sol¹⁰.

La halofantrina difiere estructuralmente de otros antimaláricos, es un fenantreno metanol y es un buen ejemplo de del diseño de fármacos que incorpora la sustitución bioisostérica, como es evidenciado en el grupo trifluorometil, es un esquizonticida y no tiene efecto sobre los esporozoitos, gametocitos o estados hepáticos. La lumefantrina es un análogo estructural de la halofantrina es un aril alcohol racémico sintetizado en la década de los setenta por la Academia Médica de Ciencias Militares en Beijing China, es un inhibidor de la formación de la hemozoina¹⁰. La atovaquona se desarrolló basándose en la actividad antiprotozoaria de ciertas naftoquinonas, los estudios clínicos mostraron que produce una buena respuesta y altas velocidades de liberación en pacientes con malaria no complicada causada por *P. falciparum*¹⁸.

COMBINACIONES TERAPÉUTICAS DE FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

El principio de la combinación terapéutica se basa en el potencial sinérgico o aditivo de dos o más medicamentos para aumentar la eficacia y además retrasar la aparición de resistencia a los distintos componentes de la combinación. La combinación terapéutica de fármacos antimaláricos consiste en el uso de dos o más fármacos esquizonticidas sanguíneos con modalidades de acción independiente y diferentes dianas bioquímicas en el parásito. Del mismo modo, ciertos fármacos que reúnen los criterios de

las combinaciones sinérgicas de dosis fija se consideran, desde el punto de vista operacional, productos únicos en el sentido de que ninguno de sus componentes se administraría por sí solo para la terapia Antimalárica, ejemplo de ello es la combinación Sulfadoxina-Pirimetamina. En la actualidad las combinaciones terapéuticas de fármacos antimaláricos se dividen en: Combinaciones no basadas en la artemisinina, como CQ más sulfadoxina-pirimetamina, amodiaquina más sulfadoxina-pirimetamina, atovaquona-proguanil, mefloquina más sulfadoxina-pirimetamina y quinina más tetraciclina o doxiciclina. Las combinaciones basadas en la artemisinina; entre las que se encuentran artesunato más CQ, artesunato más sulfadoxina-pirimetamina, artesunato más mefloquina y arteméter mas lumefantrina²².

1.1.4. RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

La resistencia a los fármacos antimaláricos ha sido definida como la habilidad de una cepa del parásito para sobrevivir y/o multiplicarse a pesar de la administración y absorción de un fármaco dado en dosis igual o más alta que aquella recomendada usualmente pero entre lo tolerado por el sujeto. Esta definición fue después modificada para especificar que el fármaco en cuestión debería tener acceso al parásito o al glóbulo rojo infectado para la duración del tiempo necesario para su acción normal²³.

El establecimiento de la resistencia requiere la demostración de la parasitemia de la malaria en un paciente que haya recibido una dosis de tratamiento cumplido de un fármaco antimalárico y la demostración simultánea de concentraciones del fármaco y del metabolito en sangre mediante los métodos establecidos en laboratorio o tests *in vitro*. En la práctica, esto es raramente hecho con estudios *in vivo*. Los estudios *in vivo* de fármacos para los cuales la resistencia es bien conocida, como la CQ, infrecuentemente incluye la confirmación de la absorción del fármaco y su metabolismo, es considerado suficiente la

demostración de la persistencia de los parásitos en pacientes que reciben una terapia observada directamente²³.

MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMALÁRICA

En general, la resistencia parece ocurrir a través de mutaciones espontáneas que confieren una sensibilidad reducida a un fármaco o a una clase de fármacos dado, para algunos fármacos, se requiere solamente un punto único de mutación para conferir resistencia, mientras que para otros, parece ser requerido múltiples mutaciones. Las mutaciones presentes no son perjudiciales para la supervivencia o reproducción de los parásitos, la exposición a los fármacos puede remover los parásitos susceptibles mientras que los resistentes sobrevivirán. Se ha encontrado que un aislado de malaria único puede ser originado de una población heterogénea de parásitos que puede tener una amplia variedad de respuestas características a los fármacos, desde una alta resistencia a una sensibilidad completa. Similarmente, en un área geográfica, las infecciones maláricas han demostrado un amplio rango de susceptibilidad²⁴.

ALCANCE DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMALÁRICOS

La resistencia a los fármacos antimaláricos se ha descrito para dos de las cuatro especies de parásito de la malaria, *P. falciparum* y *P. vivax*. El *P. falciparum* ha desarrollado resistencia hacia los principales fármacos antimaláricos de uso corriente, sin embargo, la distribución geográfica de la resistencia a un único fármaco antimalárico varía considerablemente (Tabla 1). La infección por *P. vivax* reportada en algunas áreas ha mostrado ser resistente a CQ y/o primaquina^{25,26}. En líneas generales se reportan menor número de casos de malaria producida por *P. falciparum* resistente a CQ que de malaria transmitida por el *P. falciparum* sensible, excepto en las áreas maláricas de América Central²⁷.

Tabla 1. Distribución Mundial de la Malaria causada por *P. falciparum* resistente a fármacos.

Región	Resistencia Reportada ¹			Comentarios	
	CQ	SP	MQ	Otros	
INFECCIONES POR <i>Plasmodium falciparum</i>					
América Central (México, Belice, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y NO Panamá)	No	No	No	Nor Oeste del canal de Panamá solamente	
Caribe (Haití y República Dominicana solamente)	No	No	No		
América del Sur (SE Panamá, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Brazil, Bolivia)	Si	Si	Si	QN	Aunque se reporta resistencia a MQ y QN ocurre poco frecuentemente
Oeste África	Si	Si	Si	La incidencia de la resistencia en CQ es variable, pero muy común en la mayoría de las áreas	
Este África	Si	Si	No	La incidencia de la resistencia en SP es altamente variable, con algunos reportes de incidencia altamente focalizada, pero generalmente poco común	
Sur África	Si	Si	No	La resistencia a SP, aunque es reportada, se considera poco común	
India	Si	No	No		
Sur-Este Asia y Oceanía	Si	Si	Si	HAL QN	Las áreas que bordean Tailandia, Camboia y Myanmar están en alto riesgo para infecciones resistentes a múltiples fármacos. En otras áreas la incidencia de resistencia a SP y MQ es alarmante variable y ausente en muchas áreas
Este Asia (China)	Si	Si	?	La resistencia es el más grande problema en el Sur de China	

¹Los reportes de resistencia para un agente dado que ocurren en un área no necesariamente significa que la ocurrencia es lo suficientemente frecuente para pasar a ser un riesgo significativo de salud pública.

CQ = Cloroquina

QN = Quinina

SP = Sulfadoxina-Pirimetamina

HAL = Halofantrina

MQ = Mefloquina

1.1.5. DERIVADOS DE LA 4-AMINOQUINOLINA

El fragmento estructural o plantilla 4-aminoquinolina está presente en una gran variedad de compuestos naturales y sintéticos farmacológicamente activos, dichos compuestos históricamente constituyen la cantidad más importante de fármacos antimaláricos alguna vez usados, siendo el fármaco más conocido de este tipo la CQ, a lo largo del siglo XX, proporcionó una esperanza bien fundamentada de erradicación de la malaria²⁸. A la gran variedad de actividades biológicas que presentan los compuestos con esta plantilla como antibacterianos, antineoplásicos, amebicidas y antiinflamatorios entre otros, recientemente se ha reportado que fármacos antimaláricos conocidos tales como quinina, CQ, mefloquina, primaquina y amodiaquina exhiben una excelente actividad contra el *Mycobacterium tuberculosis*^{29,30}.

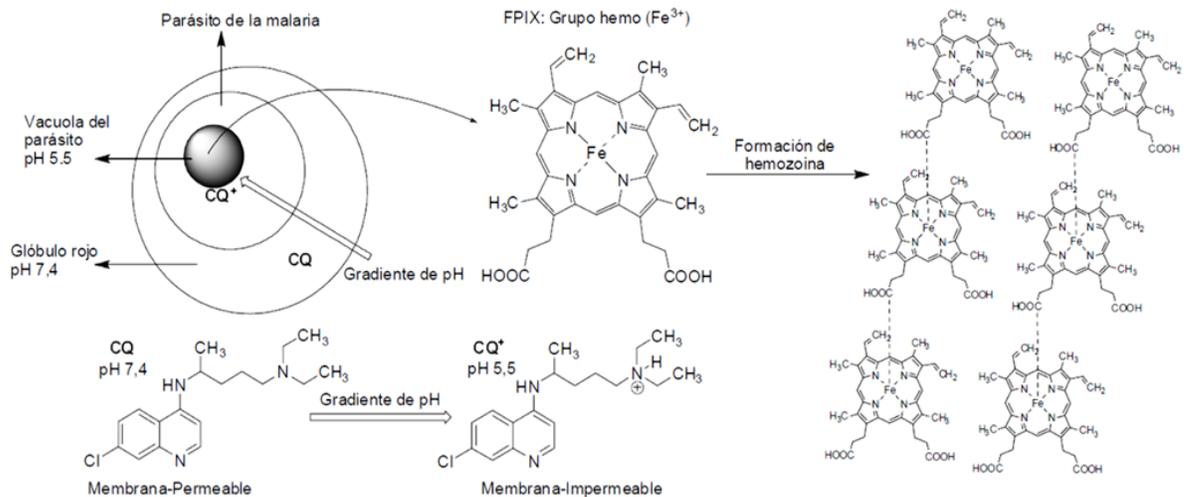
COROQUINA: EL ANTIMALÁRICO MÁS IMPORTANTE

La CQ se sintetizó en 1934 pero solo se indicó su uso hasta 1946 por ser considerada inicialmente, tóxica, desde entonces se convirtió en el antimalárico más importante y efectivo, de tal forma que se utilizó desmesuradamente en un esfuerzo para erradicar la malaria del planeta, llegando inclusive a suministrarse a la población en la sal de cocina, poco después de que se iniciara esto se presentaron los primeros casos de resistencia al fármaco. Desde los años 40 se han sintetizado análogos de la CQ con miras a mejorar la actividad antimalárica, con tal motivo se han elaborado innumerable bibliotecas de compuestos que han servido para enriquecer los factores que afectan la actividad biológica de los compuestos.

A pesar de que la Quinina y otros derivados de la quinolina han sido usados en la terapia antimalárica específica por más de 300 años, se ha dificultado el establecimiento del mecanismo preciso de su acción³². Ciertamente la CQ es activa solo en las etapas eritrocíticas del *P.* cuando está degradando activamente a la Hb, este fármaco se acumula

en altas concentraciones dentro de la vacuola ácida del parásito, debido a como ella es una base diprótica débil, en su forma neutra puede atravesar la membrana de los eritrocitos invadidos y moverse con el gradiente de pH (Figura 19)³¹.

Figura 19. Acumulación de la CQ en el parásito por una “trampa de iones”.



Al ser el grupo hemo libre capaz de coordinar con los núcleos presentes en las bases nitrogenadas, pirimidinas y purinas, también puede formar complejos con las 4-aminoquinolinas impidiendo que el parásito lo polimerice para su detoxificación, de hecho la afinidad del parásito por la CQ es similar a la afinidad de la CQ por el grupo hemo, esta hipótesis se fortaleció al comprobarse que el complejo CQ-grupo hemo es más tóxico para el *P.* que el grupo hemo libre³¹.

También se ha postulado que la interrupción de la polimerización del hemo inducida por CQ es el resultado tanto de la unión de este fármaco al grupo hemo con secuestro del sustrato, como de la interacción directa de ella con una proteína en la polimerización, de tal modo que la CQ y sus congéneres se unen al grupo hemo de una

manera no covalente y se ha observado por RMN que es mediante la interacción π - π del núcleo de la quinolina con la porción porfirina³³.

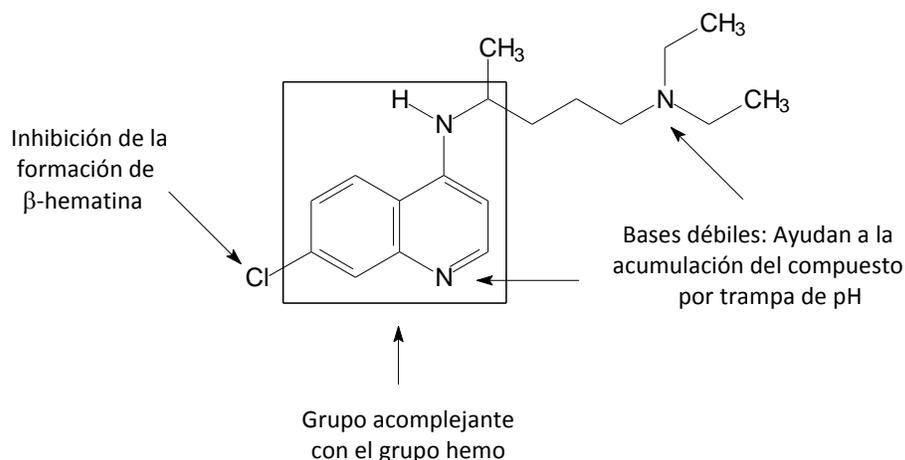
Entre las evidencias reportadas desde hace tiempo atrás que indican que la CQ, actúa por inhibición de la polimerización del grupo hemo que es liberado en la degradación de la hemoglobina, se encuentran: Las quinolinas bloquean la polimerización de hemo mM en hemozoina *in vitro* bajo condiciones fisiológicas aproximadas mediadas por lisados de trofozoito. La inhibición de estas quinolinas en estadio-específicos del parásito activa la degradación de la hemoglobina y produce hemozoina. El primer efecto morfológico del tratamiento con estos fármacos es el aumento del tamaño de la vacuola digestiva. La CQ y sus congéneres se acumulan en concentraciones cercanas a la mM en la vacuola digestiva del *P. falciparum* en comparación con el plasma que tiene concentraciones en el orden nM³⁴.

Resistencia a la CQ: El mecanismo bioquímico de resistencia del *P. falciparum* a la CQ, se cree que está relacionada con un incremento en la capacidad del parásito para expelerla a una velocidad que no le permite a la CQ alcanzar los niveles requeridos para la inhibición de la polimerización del hemo³⁵. Este eflujo de CQ ocurre a una velocidad de 40 a 50 veces más rápido entre los parásitos resistentes que entre los parásitos sensibles, además entre la evidencia que soporta este mecanismo se encuentra el hecho de que la resistencia a la Cloroquina puede ser reversada por fármacos que interfieren con este sistema de eflujo³⁶. Muy recientemente se reportó que existe una fuerte evidencia que los niveles modulan la respuesta a la CQ en la malaria de ratones causada por especie *P. berghei*, pero aun no se ha establecido firmemente el papel del ciclo redox en la contribución en el grado de resistencia a la CQ en las especies infecciosas al humano³⁷.

Relación Estructura Química-Actividad Biológica: Buscando los componentes estructurales necesarios para conseguir nuevos agentes antimaláricos que mantenga su actividad, superen los problemas de resistencia y presenten una baja toxicidad, se ha encontrado lo siguiente:

1. El núcleo de la 4-aminoquinolina provee por sí solo, una estructura acomplejante del grupo hemo, pero no lo suficiente para inhibir la formación de la hemozoina.
2. El cloro en la posición 7 es responsable por la inhibición en la formación de hemozoina pero, probablemente tiene, poca influencia en la fuerza de asociación con el grupo hemo.
3. La cadena lateral aminoalquílica es un requerimiento para la fuerte actividad antiplasmódica, probablemente ayuda con la acumulación en la vacuola y también parece aumentar la fuerza de asociación con el grupo hemo (Figura 20)³⁸.

Figura 20. Relación estructura-actividad propuesta para los derivados de la CQ.

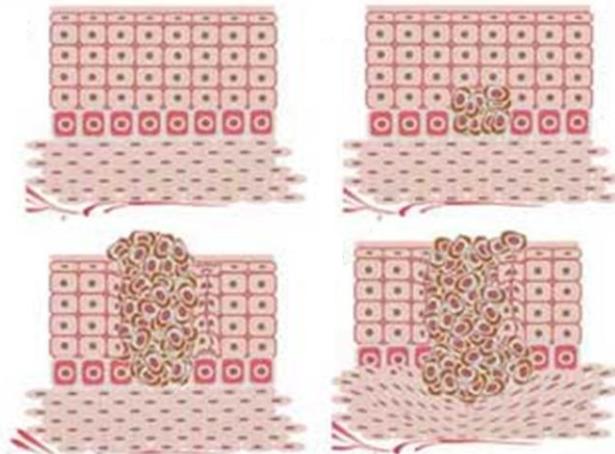


Dascombe y colaboradores reportaron un estudio detallado de un modelo farmacofórico que ha ido usado para identificar bisquinolinas antimaláricas potentes, solubles, biodisponibles por vía oral. La Metaquina: diclorhidrato de *N,N'*-bis(7-cloro quinolin-4-ilbenceno-1,3-diamina, que es activa contra el *P. berghei in vivo* y contra el *P. falciparum* resistente a multi fármacos mostró una fuerte afinidad con este modelo de receptor predicho por cálculos de modelado molecular.³⁹

1.2. CÁNCER O NEOPLASIA

El cáncer se define como un conjunto de enfermedades en donde las células malignas (cancerosas) escapan a la vigilancia y eliminación por parte del sistema inmunológico innato y adaptativo (inmunovigilancia), mediante un proceso denominado “inmunoselección”, lo cual ocasiona crecimiento y división celular más allá de los límites normales. El cáncer se origina cuando las células normales se transforman en cancerígenas, es decir, adquieren la capacidad de multiplicarse descontroladamente e invadir tejidos y otros órganos (Figura 21)⁴⁰.

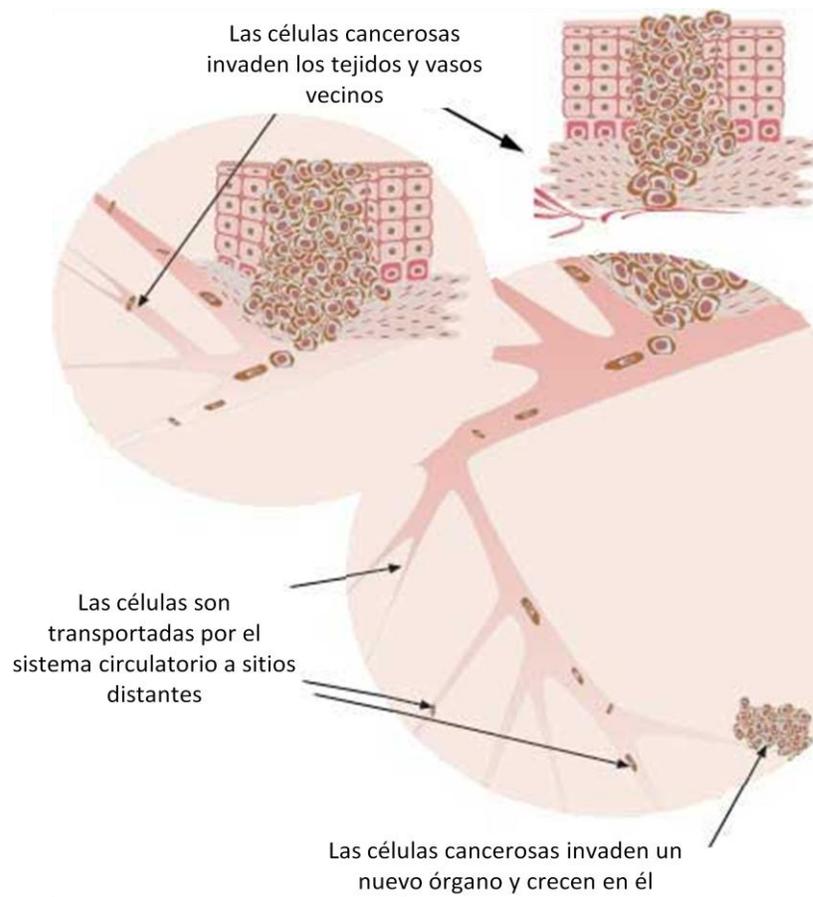
Figura 21. Origen del cáncer.



El proceso de carcinogénesis en humanos se realiza en múltiples pasos, en donde ocurre una serie de alteraciones genéticas, que conllevan a la transformación progresiva hacia células malignas (Figura 22). La primera fase comienza cuando agentes carcinógenos actúan sobre la célula alterando su material genético (mutación), una primera mutación no es suficiente para que se genere un cáncer, pero es el inicio del proceso. La condición

indispensable es que la célula alterada sea capaz de dividirse. Como resultado, las células dañadas comienzan a multiplicarse a una velocidad ligeramente superior a la normal, transmitiendo a sus descendientes la mutación, a esto se le llama **fase de iniciación tumoral** y las células involucradas en esta fase se llaman células iniciadas⁴⁰.

Figura 22. Fases de la carcinogénesis.

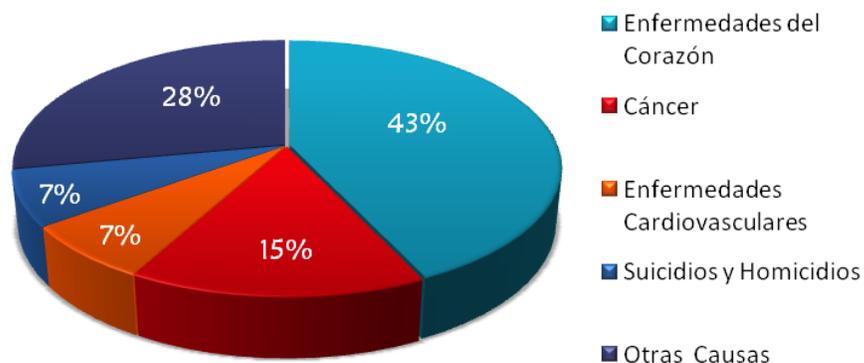


La alteración producida es irreversible, pero insuficiente para desarrollar el cáncer, pero si sobre las células iniciadas actúan de nuevo y de forma repetida los agentes carcinógenos, la multiplicación celular comienza a ser más rápida y la probabilidad de que

se produzcan nuevas mutaciones aumenta, a esto se le llama fase de promoción y las células involucradas en esta fase se denominan células promocionadas, actualmente se conocen muchos factores que actúan sobre esta fase, como el tabaco, la alimentación inadecuada, el alcohol, etc. Por último, las células iniciadas y promocionadas sufren nuevas mutaciones, cada vez se hacen más anómalas en su crecimiento y comportamiento, adquieren la capacidad de invasión, tanto a nivel local infiltrando los tejidos al alrededor, como a distancia, originando las metástasis, esta es la fase de progresión⁴¹.

Según las estadísticas de la OMS, el cáncer es la primera causa de muerte a nivel mundial, con 7,6 millones de personas para el año 2008. Se estima que la mortalidad a causa del cáncer seguirá aumentando y alcanzará 11 millones de muertos en el 2030⁴². En Venezuela el cáncer también constituye una de las causas más frecuentes de muerte, con el segundo lugar de mortalidad en el país (Gráfico 1)⁴³.

Gráfico 1. Principales causas de fallecimientos por enfermedad en Venezuela, año 2005.



Los reportes indican que una de cada cuatro personas, al alcanzar los 74 años, será afectada por algún tipo de cáncer, y una de cada siete de estas personas tiene un alto

riesgo de morir por esta enfermedad. Para el año 2007 en Venezuela, existía una alta tasa de morbilidad para el cáncer de próstata, pulmón, estómago, colon y recto; mientras que, el estimado de muertes predominante para el cáncer de próstata, fue de 1799 defunciones, siguiendo por el cáncer de pulmón y bronquios con 1710. En relación a las mujeres, la mayor tasa de morbilidad la conforman el cáncer de glándulas mamarias, cuello uterino, pulmones, colon y recto. Las defunciones a causa del cáncer de cuello uterino estuvieron en el orden de 1602 pacientes, el correspondiente a glándula mamaria en 1449 muertes y el de pulmón y bronquios en el orden de 1036 defunciones. Estas cifras demuestran una gran incidencia de esta enfermedad en nuestro país por lo que es de gran importancia su estudio⁴³.

La mayoría de las células tumorales comparten siete características moleculares que no poseen las células normales, entre las cuales se encuentran:

1. Secreción autocrina de factores de crecimiento: La mayoría de los factores de crecimiento son producidos por un tipo de célula para estimular la proliferación de otra, sin embargo, muchas células cancerosas adquieren la habilidad de sintetizar, de manera descontrolada, factores de crecimiento y citocinas tales como la IL-4, la IL-10 y la IL-6, a los que responden de manera autocrina⁴⁴.

2. Insensibilidad a señales antiproliferativas: Las señales antiproliferativas son necesarias para mantener la homeostasis de los tejidos. La vía de señalización más conocida es la mediada por el factor transformador de crecimiento beta (TGF-Beta). Sin embargo, en las células tumorales pueden existir mutaciones que inhiben la transducción de señales llevadas a cabo por este factor⁴⁵.

3. Evasión de la apoptosis: La apoptosis, o muerte celular programada, ocurre a partir de dos vías principales, la vía mitocondrial y la vía mediada por el receptor de muerte. Ambas rutas de señalización confluyen en la activación de las caspasas. Muchos tumores sobre expresan proteínas inhibitoras de la apoptosis, las cuales inhiben la actividad de las

caspasas. Un mecanismo defectuoso de apoptosis contribuye a la adquisición de resistencia a la quimioterapia⁴⁶.

4. Potencial de replicación ilimitado: La replicación sin límites depende de los extremos de los cromosomas, que son conocidos como telómeros. La mayoría de las células malignas se caracterizan por un incremento en la expresión de la enzima telomerasa que añade repeticiones de nucleótidos en los extremos de los cromosomas, produciendo el alargamiento de los telómeros⁴⁷. Otro factor implicado en la replicación ilimitada de las células tumorales es la presencia de mutaciones que llevan a la pérdida de funciones de proteínas reguladoras del ciclo celular, tales como la p53⁴⁸. Adicionalmente, mutaciones en la vía de señalización de factores de transcripción, como la familia de proteínas del factor nuclear kappa B, puede conducir a la proliferación descontrolada de células del cáncer⁴⁹.

5. Angiogénesis: Los tumores necesitan oxígeno y nutrientes, esta carencia se suple con la formación de nuevos vasos sanguíneos que penetran en la masa del tumor. Las células tumorales muestran una alta expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), y del factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF1). Estos factores de crecimiento se unen a sus receptores en las células endoteliales y activan vías de señalización que facilitan la vascularización del tumor⁵⁰.

6. Invasión de tejidos y metástasis: Durante el desarrollo de la mayoría de los tipos de cáncer, algunas de las células del tumor primario migran e invaden otros tejidos, produciendo nuevos tumores o lo que conocemos como metástasis. Las metástasis causan más del 90 % de las muertes por cáncer⁵¹. Cambios en la expresión de moléculas de adhesión, inmunoglobulinas, y la sobre regulación y activación de metaloproteasas de la matriz son algunos de los mecanismos por los cuales las células tumorales pueden migrar e invadir otros tejidos⁵².

7. Evasión de la inmunovigilancia: Se considera ahora como la séptima característica de la carcinogénesis⁵³. Los tumores desarrollan mecanismos para evadir la inmunovigilancia, un concepto que se basa en la capacidad que tiene el sistema inmunológico para reconocer células precursoras de cáncer y destruirlas. Se ha reportado que esto ocurre por pérdida en la expresión de moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad u otras moléculas involucradas en el procesamiento de antígenos⁵⁴.

1.2.1. TERAPIA ANTINEOPLÁSICA

En la actualidad existen varios tipos de terapias para tratar el cáncer, entre las que se encuentran:

1. Cirugía: Se realiza cuando del estudio histológico del tumor se obtiene un diagnóstico final que permita extirpar totalmente el tumor primario.

2. Radioterapia: Es posible curar tumores localizados si éstos son sensibles a radiación, este tratamiento es complementario a la cirugía. Entre las radiaciones se encuentran las producidas por la bomba de cobalto, el acelerador lineal de electrones, el betatrón, entre otros, los cuales permiten radiar cualquier parte del cuerpo sin importar la profundidad y son capaces de ser colocadas en el punto exacto sin necesidad de dañar otros tejidos normales próximos⁵⁵.

3. Quimioterapia: Literalmente el término quimioterapia designa el empleo de sustancias químicas en el tratamiento de las enfermedades, entendida así incluye todas las terapias, por eso se delimitó el concepto y en la actualidad se acepta el criterio acuñado por Paul Erlich en 1910: La Quimioterapia es el estudio de las sustancias de composición química definida que, introducidas en el organismo, son capaces de lesionar o destruir específicamente los agentes patógenos vivos, sin presentar efectos tóxicos acentuados sobre el hospedador¹.

Los agentes quimioterapéuticos antineoplásicos son los fármacos capaces de dañar las células malignas respetando relativamente al organismo, ellos pueden actuar sobre todos los procesos malignos, tumores sólidos (carcinomas y sarcomas) o neoplasias hematológicas (linfomas y leucemias).

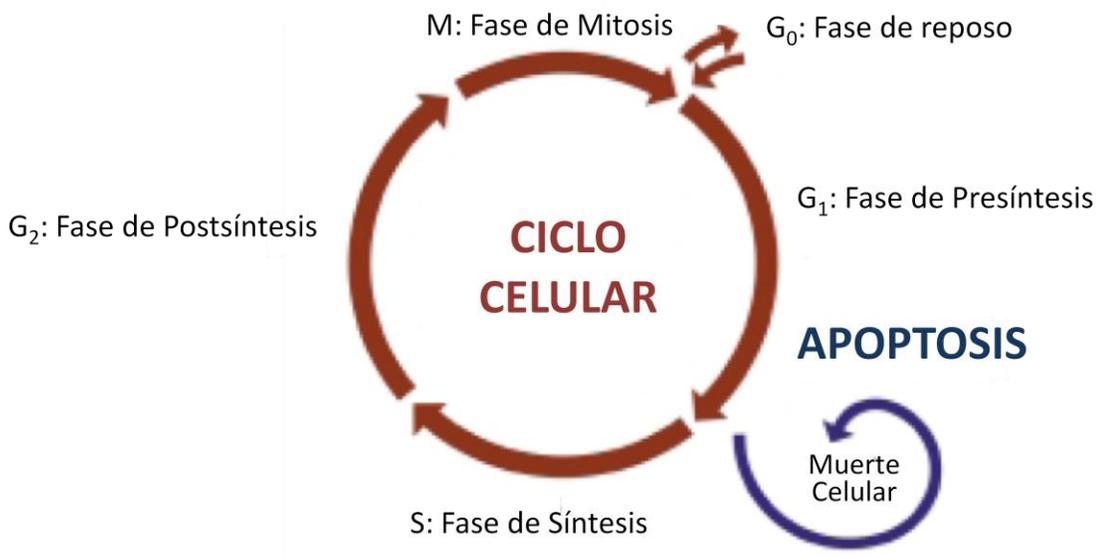
Dichos fármacos se denominan también agentes citotóxicos por que constituyen venenos celulares que destruyen o detienen el crecimiento y multiplicación de las células malignas. Los fármacos citotóxicos de que se dispone hasta el presente son de baja especificidad para el organismo, pues su acción se extiende a las células normales, sobre todo las de crecimiento rápido, como las de los folículos pilosos, tejido hematopoyético y el epitelio gastrointestinal, ellos no son capaces de curar los procesos neoplásicos, lo que pueden conseguir es una remisión más o menos prolongada pero bastante frecuente como para justificar su uso, debido a que son bastante tóxicas¹.

1.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Las bases moleculares del cáncer y el mecanismo de acción de los agentes antineoplásicos están íntimamente relacionados con los procesos biológicos que regulan el ciclo celular y la apoptosis. En condiciones normales existe un equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis, pero en el cáncer aparecen mutaciones que dan lugar a la activación de *oncogenes* (genes que codifican proteínas del ciclo celular que favorecen la proliferación celular) o la inactivación de *genes supresores* (genes que codifican proteínas que frenan el ciclo celular), debido a esto, se rompe el equilibrio y se desplaza hacia la proliferación desenfrenada y la immortalización de la línea celular, para lo cual ocurren mutaciones adicionales que favorecen la angiogénesis mediada por factores de crecimiento y la adhesión intracelular⁵⁶.

Un ciclo celular es el período comprendido entre el nacimiento de una nueva célula y su división, la regulación de la división celular es fundamental tanto para generar nuevas células en el desarrollo embrionario como para reemplazar las células dañadas en un órgano adulto. El ciclo celular se divide en cuatro fases: Fase G_0 o de reposo las células permanecen sin dividirse, pero conservan la capacidad de reiniciar el ciclo para repoblar el tejido, fase G_1 de presíntesis, las células producen ARN y proteínas; fase S se replica el ADN; fase G_2 o de postsíntesis en la que el núcleo se organiza para la división celular que se produce en la fase M o de mitosis (Figura 23)⁵⁶.

Figura 23. Ciclo celular y apoptosis.



La muerte celular es un proceso irreversible que culmina con el cese de la actividad biológica. Existen dos formas de muerte celular que son necrosis y apoptosis. Ambas difieren en sus manifestaciones morfológicas, bioquímicas y en su relevancia biológica⁵⁷. La necrosis es un proceso pasivo, degenerativo y catabólico, que generalmente representa la respuesta celular a un daño grave. Morfológicamente se caracteriza por hinchazón de la

célula, ruptura de la membrana celular y liberación del contenido citoplasmático; dentro de sus características bioquímicas se observan áreas desiguales de condensación de la cromatina así como productos de ruptura de ADN heterogéneos en tamaño. Al ocurrir necrosis, ésta promueve una respuesta inflamatoria del tejido circundante⁵⁸.

La apoptosis, mejor conocida como muerte celular programada, es un proceso activo y fisiológico en el cual la célula ejecuta su propia extinción. El término apoptosis fue adoptado por primera vez en 1972 para describir un tipo de muerte celular observada en varios tejidos y tipos celulares⁵⁹, este tipo de muerte es el mayor mecanismo de control por el cual las células mueren si sufren un daño en su ADN que no puede ser reparado, así como durante la embriogénesis, en procesos de recambio de tejidos y en algunos procesos inmunológicos. La regulación de este tipo de muerte involucra la presencia de al menos dos puntos de control, la familia de proteínas Bcl-2/Bax, y la familia de las proteasas cisteínicas (caspasas), además, muchos oncogenes y genes supresores de tumores tales como p53, el factor nuclear kappa B y el sistema ubiquitina/proteasoma interactúan con estos puntos de control regulando la proliferación celular o la apoptosis⁶⁰.

1.2.3. CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Los fármacos antineoplásicos pueden actuar específicamente en alguna fase o sobre varias fases del ciclo celular, en consecuencia tienen actividad solo contra células que están en proceso de división, de igual manera, las neoplasias humanas que son más susceptibles al tratamiento quimioterapéutico son las que tienen un alto porcentaje de células en proceso de división, por otra parte los tumores de crecimiento lento con frecuencia no responden a estos agentes citotóxicos⁶¹.

Con base a lo anteriormente expuesto los agentes antineoplásicos pueden ser: a.- Fármacos específicos del ciclo celular, que son los que actúan solamente en determinada

fase del ciclo, como en la fase S de síntesis del ADN, o en la fase G₂. b.- Fármacos no específicos del ciclo celular que son los que actúan en todas las fases; G₁, S y G₂⁶¹.

También se han clasificados los agentes antineoplásicos en los siguientes grupos principales: 1. Agentes Alquilantes. 2. Antimetabolitos. 3. Productos naturales. 4. Complejos de coordinación con Platino. 5. Agentes miscelaneos⁶².

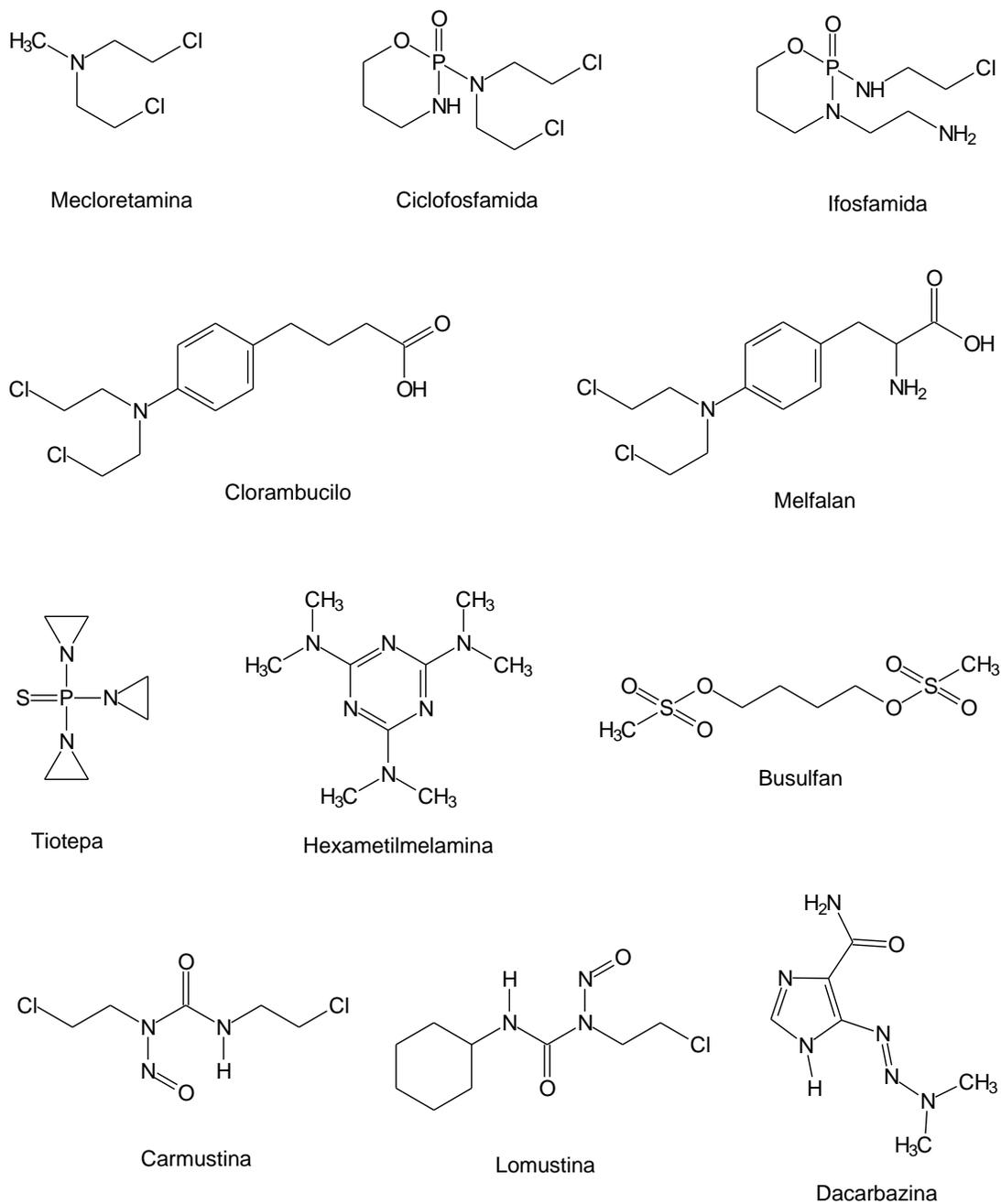
1. Agentes Alquilantes: Son compuestos fuertemente electrofílicos que reaccionan con nucleófilos endógenos mediante la formación de enlaces covalentes. Dada su elevada reactividad, muestran una selectividad escasa a nivel celular, así como entre las células normales y las células cancerosas. Los primeros agentes alquilantes se descubrieron a partir de la observación de los efectos producidos por el gas mostaza (sulfuro de bis-2-cloroetilo), un gas tóxico utilizado como arma química durante la primera guerra mundial⁶³.

Sus efectos quimioterapéuticos citotóxicos están directamente relacionados con la alquilación del ADN. El átomo de nitrógeno 7 de la guanina es particularmente susceptible a la formación de un enlace covalente con agentes alquilantes bifuncionales y bien puede representar el objetivo clave que determina sus efectos biológicos. Otros átomos en las bases de purina y pirimidina del ADN, incluyendo nitrógeno 1 y nitrógeno 3 de la adenina, nitrógeno 3 de la citosina y oxígeno 6 de la guanina, reaccionan para formar enlaces con estos agentes, así como los grupos amino y sulfhidrilo de las proteínas⁶³.

En la actualidad se usan en la quimioterapia cinco tipos principales de agentes alquilantes: a. Mostazas nitrogenadas. b. Etilendiaminas. c. Sulfonatos de alquilo. d. Nitrosoureas. e. Triacenos. Entre el grupo de mostazas nitrogenadas se encuentran la mecloretamina, la ciclofosfamida, la ifosfamida, el clorambucilo y el melfalán. En el segundo grupo de las etilendiaminas tenemos a la tiotepa y la altretamina también conocida como la hexametilmelamina. El tercer grupo de sulfonatos está conformado por

el busulfán, el quinto grupo de las nitrosoúreas lo representan la carmustina, la lomustina y el grupo de los triazenos constituido por la dacarbazina (Figura 24)¹⁸.

Figura 24. Estructura química de algunos agentes alquilantes.



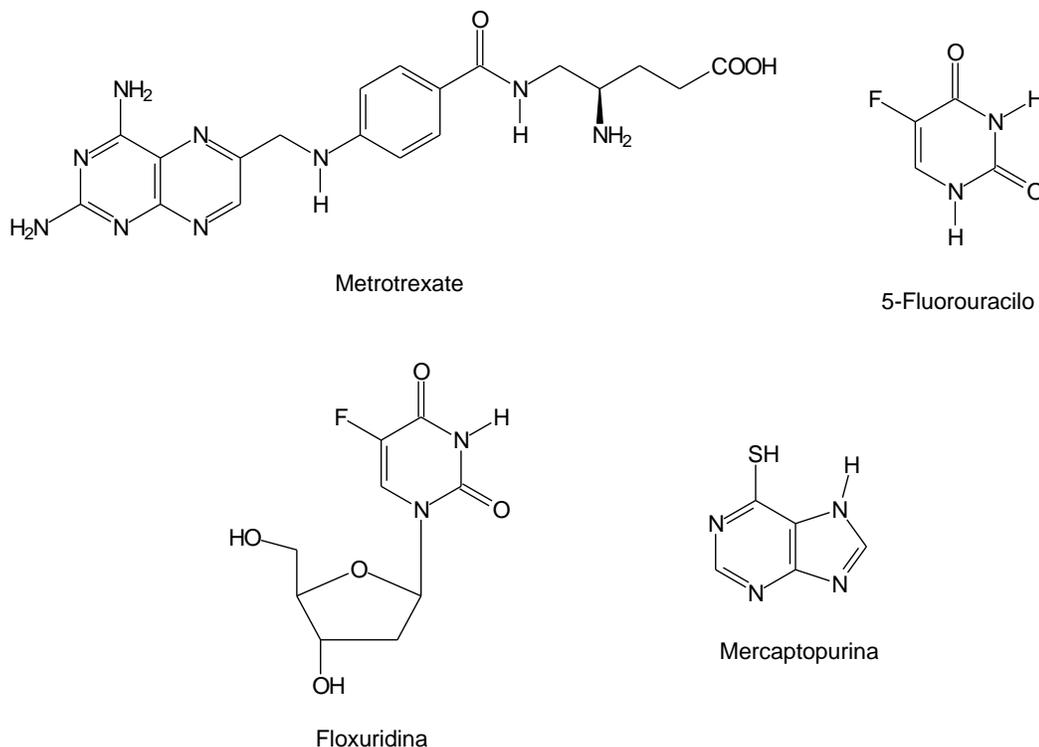
2. Antimetabolitos: Son compuestos que actúan interfiriendo con la función de un metabolito esencial por un mecanismo de competición debido a que son análogos estructurales, de esta manera impiden la biosíntesis de los ácidos nucleicos. Los empleados en terapéutica corresponden a tres grupos: a. Antagonistas del ácido fólico. b. Antagonistas de la purina. c. Antagonistas de la Pirimidina. Los antagonistas del ácido fólico o antifolatos, como el metotrexato, actúan inhibiendo la enzima DHFR, uniéndose a ella en el sitio activo, lo que ejerce sus efectos tóxicos, por lo que no se producen los cofactores de tetrahidrofolato y disminuye la síntesis de purinas y timidilato, esto afecta la síntesis de los nucleótidos, lo que conduce a la inhibición de la formación del ADN, ARN. En definitiva queda bloqueado el ciclo celular en la Fase S¹⁸.

Entre los análogos de la pirimidina se encuentra una diversidad de fármacos que presentan en común la facultad de inhibir la biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos, o imitar la acción de estos metabolitos naturales. Esto impide la acción de las funciones celulares vitales (síntesis de ADN) y la síntesis y función de los ácidos nucleicos. Los más importantes representantes de este grupo son análogos de la fluoropirimidina y la citidina. Dentro del primer grupo se encuentran el 5-fluorouracilo y la 5-fluorodesoxiuridina (floxuridina), entre otros. Los análogos de la purina como las mercaptopurinas y las tioguanina, son sustrato de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa que tiene como función transformar las bases formadas durante los diferentes procesos en los nucleótidos, lo que nos indica la formación de los ribonucleótidos de estos fármacos. Estas bases formadas son incorporadas en el ADN celular, y de esta forma se inhibe la síntesis del ADN y ARN. Dentro de este grupo se encuentra la mercaptopurina (Figura 25)¹⁸.

3. Productos naturales: En esta categoría se encuentran los antibióticos antineoplásicos, los agentes antimetabólicos, las epipodofilotoxinas y las enzimas. Los antibióticos antineoplásicos son compuestos originados por microorganismos que tienen propiedades citotóxicas, desde el punto de vista químico corresponden a 5 grupos: a.-

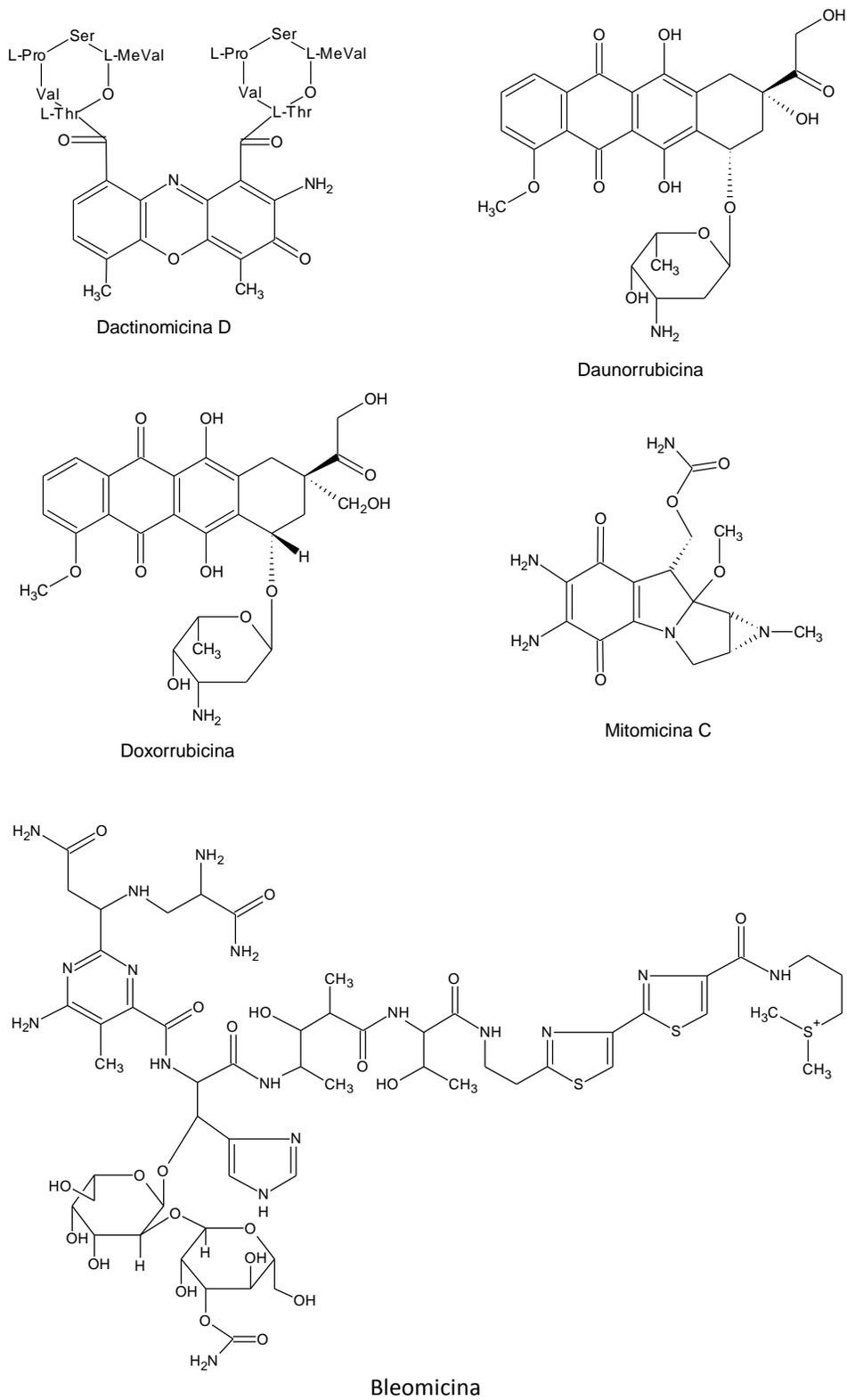
Actinomicinas o Cromopéptidos. b.- Antraciclinas. c.- Mitomicinas d.- Mitramicinas y compuestos relacionados. e.- Bleomicinas¹.

Figura 25. Estructura química de algunos antimetabolitos.



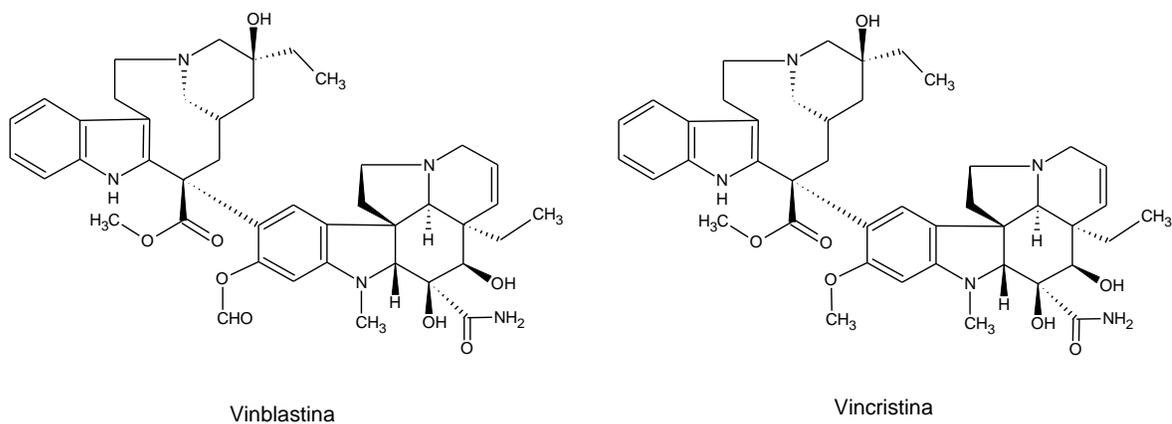
Las actinomicinas son compuestos peptídicos, el más utilizado de este grupo es la dactinomicina D. Las antraciclinas son derivados del naftaceno, las más importantes son la daunorrubicina o daunomicina y la doxorrubicina o adriamicina. El principal representante del grupo de las mitomicinas es la mitomicina C, contiene en su estructura un grupo quinona y un anillo mitosano y con cada uno de ellos puede unirse covalentemente al ADN. Las bleomicinas son glucopeptidos básicos insolubles, su acción biológica viene dada por la formación de radicales libres de oxígeno que se unen al ADN afectando el ciclo celular en la fase G₂ (Figura 26)¹.

Figura 26. Estructura química de algunos antibióticos.



Entre los agentes antimetabólicos se encuentran los alcaloides de la vinca y el grupo de los taxanos. Los alcaloides de la vinca, están representados por la vinblastina y la vincristina entre otras, estos alcaloides son dímeros asimétricos, su mecanismo de acción es bloquear la polimerización de la tubulina a microtúbulos deteniendo así la mitosis en la metafase (Figura 27)⁶⁴.

Figura 27. Estructura química de los alcaloides de la Vinca.

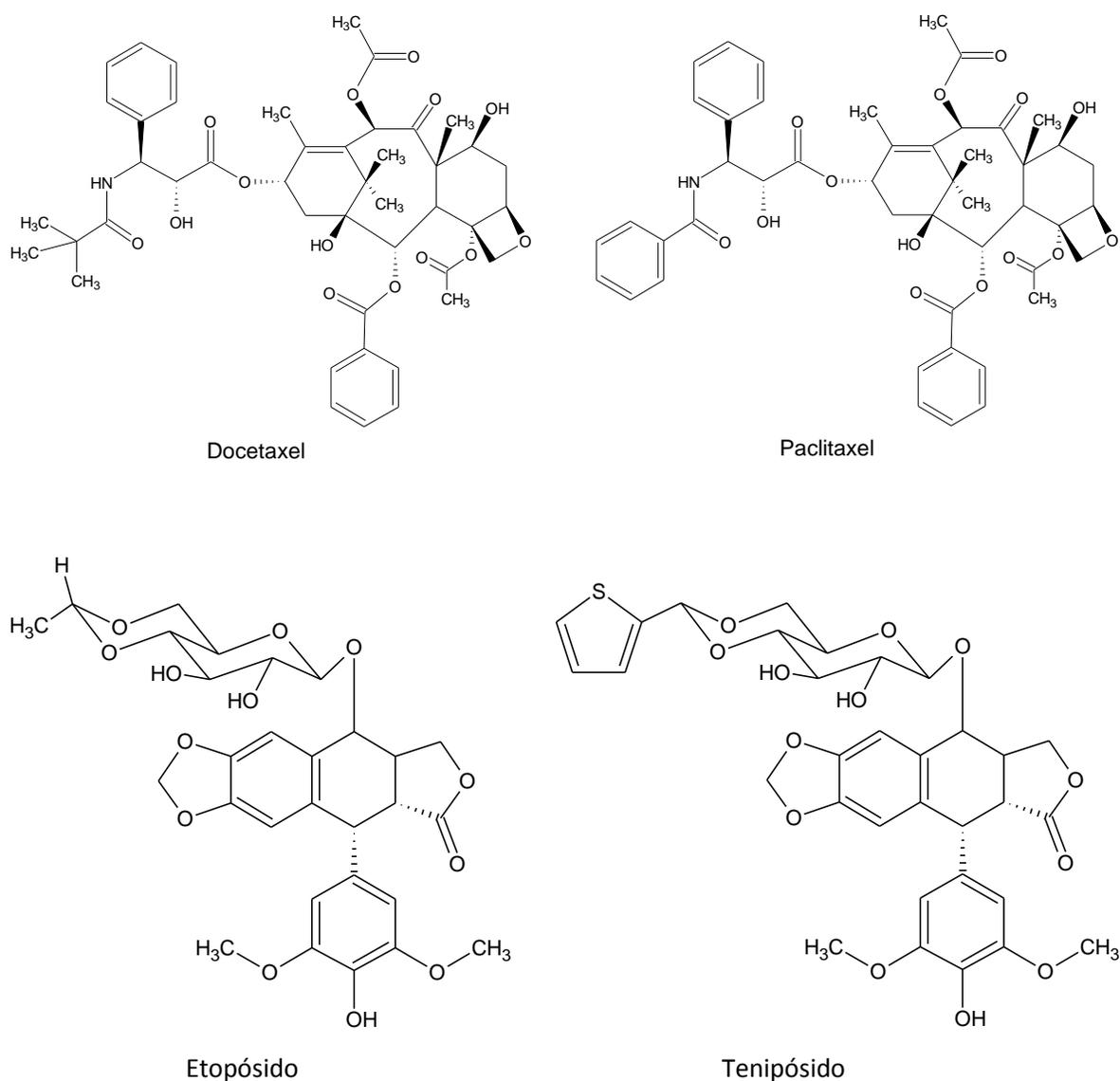


Los taxanos son compuestos diterpenoides, tienen una cadena lateral que es esencial para su actividad biológica, las modificaciones de dicha cadena en el taxol ha permitido obtener análogos más potentes. Su mecanismo de acción es en la Fase M del ciclo celular, donde se une a las unidades de β -tubulina de los microtúbulos, lo que inhibe el desenlace de los microtúbulos, deteniendo así el Ciclo Celular en la mitosis y la inhibición de la topoisomerasas II. Los representantes de este grupo son: el docetaxel y el paclitaxel (Figura 28)⁶⁵.

Otros compuestos que se encuentran entre los productos naturales son los derivados de la podofilotoxina que es el principio activo de la resina de la planta

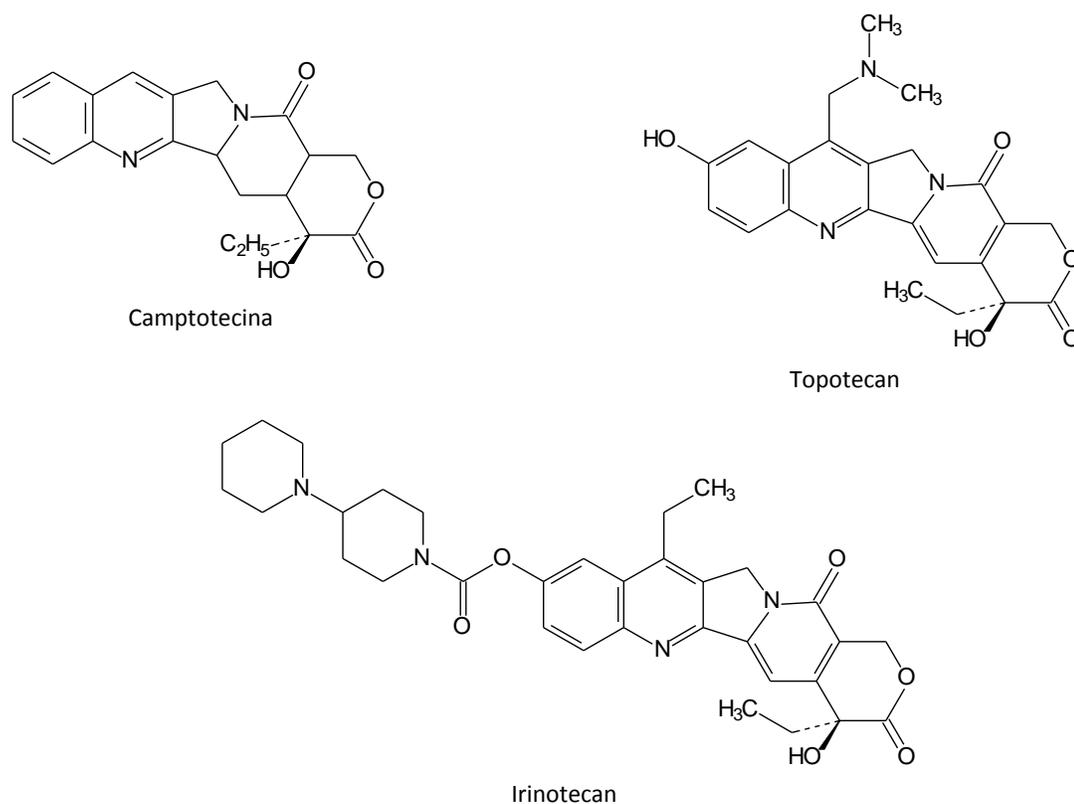
Podophillum peltatum, a partir de ella se prepararon los derivados sintéticos, que son los glucósidos el etoposido y el teniposido, estos compuestos no detienen la mitosis sino que forman complejos con la topoisomerasa II y el ADN que ocasionan ruptura de la cadena del mismo (Figura 28)¹.

Figura 28. Estructura química de los Taxanos y de los derivados de la Podofilotoxina.



Otros productos naturales que haremos mención especial son los denominados alcaloides quinolínicos y sus derivados, entre los cuales se encuentran: La camptotecina, la estreptonigrina y la criptolepina. La camptotecina es un potente agente antineoplásico aislado en 1966 del árbol *Camptotoca acuminata*, desde su descubrimiento se convirtió en uno de los compuestos blanco de investigaciones a fin de encontrar su modo de acción. Debido a su baja solubilidad se realizaron una primera generación de análogos sintéticos: el topotecan y el irinotecan, los cuales se usan actualmente en tratamiento del cáncer de ovario y de colon (Figura 29). Ellas inhiben la enzima topoisomerasa I del ADN humano, que es una enzima celular esencial en los procesos de replicación del ADN⁶⁶.

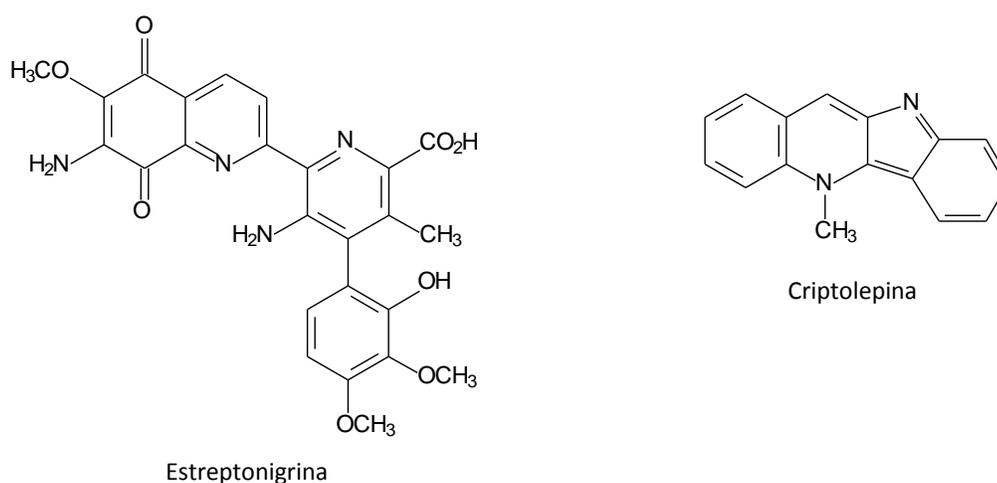
Figura 29. Estructura química de los alcaloides quinolínicos antineoplásicos.



La estreptonigrina es un alcaloide quinolínico aislado de la especie *Streptomyces flocculus* en 1959, posee propiedades citotóxicas potentes, amplio espectro antitumoral y propiedades antimicrobiana y antiviral. Aunque su uso ha sido limitado solo como antineoplásico por su toxicidad, es de gran interés debido a su capacidad de inducir la ruptura y separación de las dos hebras de ADN. Estudios realizados muestran que este hecho está relacionado con la reducción *in situ* del sistema quinolina-5,8-quinona presumiblemente a radical hidroquinona o semiquinona, lo cual genera el radical hidroxilo y superóxido (Figura 30)⁶⁶.

La criptolepina es un ejemplo anómalo de producto natural, pues su síntesis fue reportada en 1906, 23 años antes de su aislamiento de la especie *Cryptolepis triangularis*, también se aisló de la especie *Cryptolepis sanguinolenta*, el extracto de esta planta también ha sido utilizado en el tratamiento de la malaria. Este alcaloide posee una gran capacidad de concentrarse selectivamente en el núcleo celular, intercalarse en el ADN y bloquear el inicio de la replicación en el inicio del ciclo celular (Figura 30)⁶⁶.

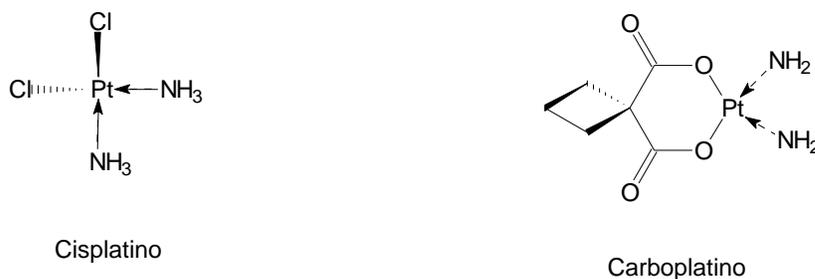
Figura 30. Estructura química de la Estreptonigrina y la Criptolepina.



Un grupo que se encuentra dentro de los productos naturales lo constituye las enzimas, la más utilizada es la asparaginasa, una enzima proteica que existe en una serie de fuentes naturales incluyendo bacterias y hongos, tiene la propiedad de hidrolizar la L-asparagina, un aminoácido natural necesario para la producción de ácido L-aspartico y amoníaco indispensable para la síntesis de proteínas, que algunas células neoplásicas no pueden biosintetizar a diferencia de las células normales¹.

4. Complejos de coordinación con Platino: Son compuestos conformados por un complejo metálico inorgánico que penetran a la célula por difusión, el fármaco que ha adquirido más relevancia es el cisplatino, que es un complejo plano, eléctricamente neutro capaz de atravesar la membranas celulares, su citotoxicidad se debe a su capacidad para intercambiar los dos iones de cloruro adyacentes por dos nitrógenos de bases púricas o pirimidínicas, para formar un quelato que interfiere en la replicación, de manera queda afectada la fase S del Ciclo Celular, otro representantes de este grupo de fármacos citotóxicos son el carboplatino (Figura 31)⁶⁷.

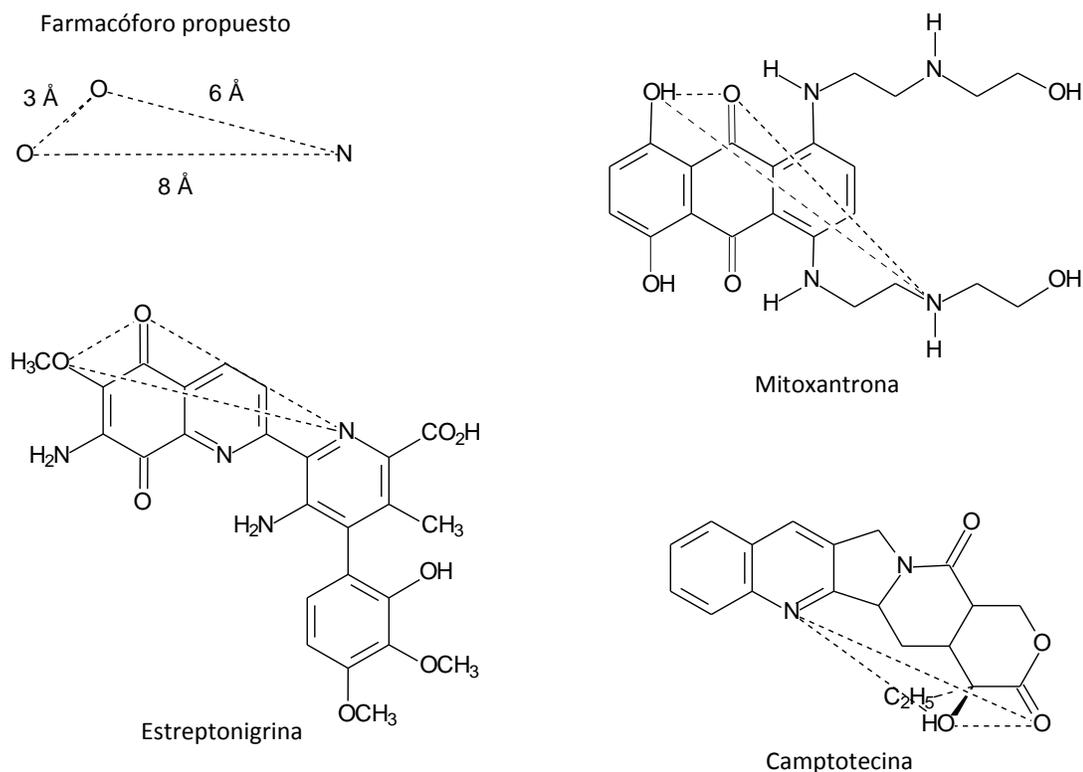
Figura 31. Estructura química de los complejos de coordinación del Platino.



5. Agentes misceláneos: Entre estos agentes se puede mencionar la mitoxantrona, químicamente es una antracenediona sintética que fue diseñada con la finalidad que

tuviera la actividad antineoplásica de las antraciclinas, pero sin su efecto cardiotoxico secundario. En este fármaco se evidencia la presencia de un farmacóforo propuesto, en forma de triángulo, en términos de distancias interatómicas, en cuyos vértices se sitúan dos oxígenos y un nitrógeno, que fue deducido a partir de compuestos tipo alcaloides quinolínicos antitumorales que presentaban estas distancias como lo son la camptotecina y la estreptonigrina (Figura 32)⁶⁸.

Figura 32. Diseño de la Mitoxantrona.

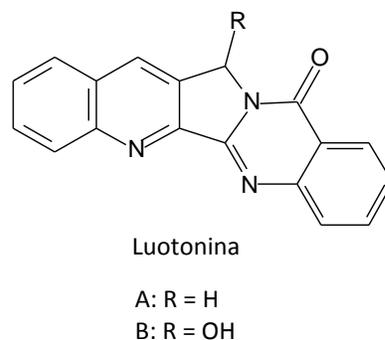


La mitoxantrona tiene los rasgos estructurales necesarios para intercalarse en el ADN e inhibir la enzima topoisomerasa II, pero con una estabilidad mayor del anillo de la quinona, posiblemente a través de un potencial incrementado para el puente de hidrógeno intramolecular²¹.

1.2.4. LUOTONINA: UN NUEVO ALCALOIDE QUINOLÍNICO

La luotonina (A y B) son alcaloides con un núcleo pirroloquinazolinoquinolina que fue recientemente aislado de la planta *Peganum nigellastrum Bunge (Zygophyllaceae)*. La planta, de nombre chino Luo-Tuo-Hao, tiene un historial de uso en la medicina tradicional china para el tratamiento de reumatismo, abscesos e inflamación. El alcaloide luotonina A es citotóxico contra la línea celular de leucemia murina P-388 (Figura 33)⁶⁹. El sistema de anillos pentacíclico de la luotonina es sorprendentemente parecido al de la camptotecina, un inhibidor de topoisomerasa I, cuyos derivados son clínicamente útiles como agentes antineoplásicos⁷⁰.

Figura 33. Estructura de la Luotonina.



1.2.5. UTILIZACIÓN DE LA CQ Y SUS CONGÉNERES COMO ANTINEOPLÁSICOS

Las compañías biofarmacéuticas que intentan aumentar la productividad mediante el empleo de nuevas tecnologías de descubrimiento de fármacos no han llegado a alcanzar los resultados deseados, en cambio la utilización de estrategias como la de reposición o reutilización de fármacos *Drug repositioning*, si ha permitido el aumento de

la productividad deseada, al encontrarse nuevas indicaciones para fármacos ya existentes. Cada vez más se investiga en las farmacopeas existentes fármacos candidatos para reposición o reutilización y el número de casos de éxito cada vez mayor, con lo que estamos llegando a la era de "viejos fármacos-nuevos usos". Tal es el caso de la CQ y sus congéneres, quienes han mostrado tener una amplia actividad como antineoplásicos^{71, 72}. Estudios recientes han reportado que los derivados de la quinolina presentan potentes efectos antiproliferativos y proapoptóticos, lo cual se demostró en diversos modelos *in vitro* e *in vivo*, entre los cuales se encuentran el estudio realizado por Geng, donde se concluye que la muerte celular mediada por CQ puede ser dependiente de p53 y al menos debido en parte a la ruta intrínseca de la apoptosis⁷³. En este mismo contexto también se reportó que la CQ y sus derivados activan la ruta de la p53 y suprime el crecimiento y la viabilidad de las células glioma⁷⁴.

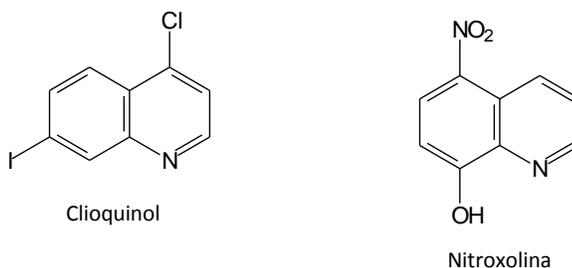
Se ha estudiado el potencial sinérgico de la CQ en terapias contra el cáncer donde han surgido evidencias que sugieren que ellas pueden sensibilizar selectivamente a las células de cáncer al tratamiento con radiaciones ionizantes y agentes quimioterapéuticos⁷⁵, esta propiedad de la CQ y sus análogos parece ser importante para incrementar la eficacia y la especificidad de los antineoplásicos⁷⁶. Se ha postulado que uno de los mecanismos de la CQ y sus derivados para aumentar el efecto de los agentes quimioterapéuticos en las células de cáncer humano, es a través de la inhibición del proceso de autofagia provocado por los fármacos antineoplásicos⁷⁷. En un estudio realizado por Sasaki y colaboradores, se sugiere que la terapia de combinación con CQ debería ser una nueva modalidad terapéutica para mejorar la eficiencia de la quimioterapia basada en 5-fluorouracilo, posiblemente por inhibición de la resistencia a la quimioterapia dependiente de autofagia⁷⁸.

En un estudio realizado por Fan y colaboradores, se reportó que la CQ disminuye la proliferación e induce a la apoptosis en la línea celular de cáncer de pulmón humano A549⁷⁹. Recientemente Wang y colaboradores, reportaron que a concentraciones no-

citotóxicas la CQ era capaz de sensibilizar a las células A549 al topotecan (TPT), y aumentar la apoptosis inducida por este derivado de la camptotecina, con lo cual inhibe el proceso de autofagia inducido por el TPT y aumenta su citotoxicidad⁸⁰. En este mismo orden de ideas también se ha reportado que la hidroxiclороquina modula la proliferación, actividad metabólica e induce la muerte de las células autofágicas en fibroblastos dérmicos humanos⁸¹.

Existen otros fármacos con el núcleo quinolina también han mostrado actividad antineoplásica (Figura 34). El clioquinol, un quelante de metales que se ha usado durante muchos años como un agente antibacteriano reduce la viabilidad de ocho diferentes líneas celulares de cáncer humano de una manera dependiente de la concentración, con valores de Cl_{50} en el bajo rango μM , el análisis bioquímico reveló que el clioquinol indujo la muerte de las células cancerosas a través de las vías de apoptosis que requieren la activación de caspasas⁸². En otro estudio se examinó el efecto del clioquinol en la inhibición del crecimiento de células de cáncer HeLa *in vitro* mediada por macrófagos, donde se evidenció que el añadido de clioquinol y macrófagos a los cocultivos de HeLa aumenta la toxicidad en las células HeLa en comparación al tratamiento de las células HeLa cultivadas solas con clioquinol⁸³. Recientemente se reportó que la nitroxolina, otro antibacteriano utilizado clínicamente, presenta una actividad citotóxica superior a la del clioquinol⁸⁴.

Figura 34. Estructura de los antibacterianos quinolínicos con acción antineoplásica.



1.3. DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS FÁRMACOS: SÍNTESIS DE COMPUESTOS

Uno de los objetivos fundamentales de la Química Medicinal es descubrimiento de nuevos fármacos que resulten más potentes, más selectivos y menos tóxicos en su acción terapéutica, con mejor farmacocinética o problemas de formulación farmacéutica debido a una solubilidad o inestabilidad inadecuadas, es decir la búsqueda de compuestos *Líderes* o Prototipos que puedan ser optimizados. Se debe diferenciar descubrimiento de desarrollo, entendiéndose por descubrimiento la fase que asegura que el compuesto tiene un perfil deseable y comprende desde la síntesis, aislamiento de una fuente natural u obtención biotecnológica hasta la realización de ensayos *in vitro* e *in vivo*, incluyendo la toxicología, mientras que el desarrollo comprende la fase de los estudios preclínicos clínicos y el registro farmacéutico.

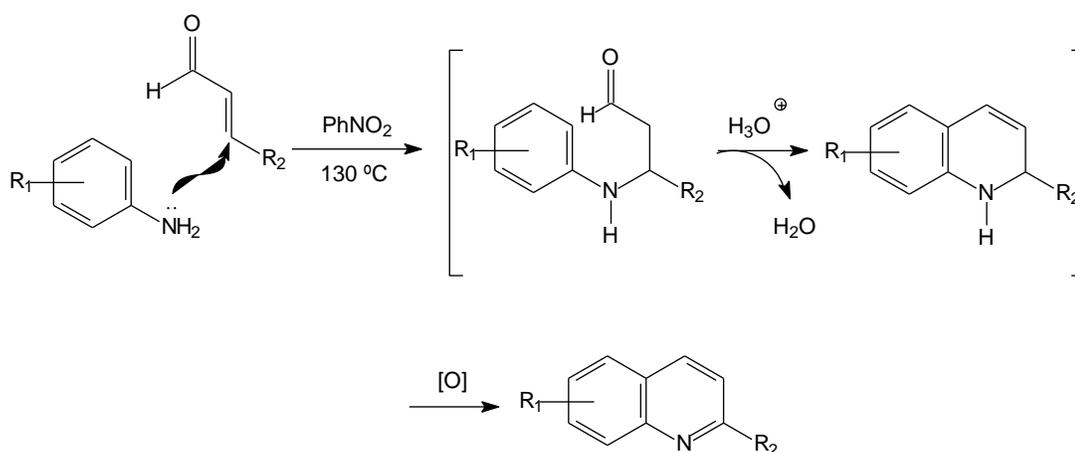
El 75% de los fármacos con que cuenta el arsenal terapéutico, son producidos por síntesis total, otros son compuestos semisintéticos que proceden de la modificación parcial de productos naturales y existe un tercer grupo que se obtiene por fermentación o por métodos biotecnológicos. Para realizar una síntesis hay que planificar todas las rutas posibles, así como tener en cuenta tanto la posición de los grupos funcionales que posee el esqueleto de átomos como su estereoquímica y seleccionar la más adecuada, de ahí su denominación de estrategia de síntesis⁸⁵.

1.3.1. INVESTIGACIONES EN ANTIMALÁRICOS DERIVADOS DE LA QUINOLINA

Los antimaláricos derivados de la quinolina han sido el pilar principal en la quimioterapia antimalárica desde los tiempos en que fueron reconocidos los extractos de la corteza de la cinchona⁸⁶. Ellos representan la mayor clase de heterociclos que se encuentran en una gran variedad de compuestos que se conocen desde el año 1800, este

sistema está presente en muchos productos naturales, especialmente alcaloides y se usa muy a menudo para el diseño de muchos compuestos sintéticos con diversas actividades biológicas⁸⁷. En estos últimos tiempos el diseño de nuevos agentes antimaláricos se ha basado en la identificación de blancos bioquímicos “*targets*” indispensables para el parásito y el descubrimiento de compuestos que actúen sobre estos blancos⁸⁶. Debido a su gran importancia en el campo farmacéutico, se han desarrollado continuas investigaciones en el área de la síntesis de sus derivados, el reporte de la primera síntesis formal de este anillo es la síntesis de Skraup y desde que este método surgió, hace más de un siglo hasta la actualidad, se han sintetizado y evaluado la posible actividad antimalárica de muchos de estos derivados⁸⁸. La síntesis de Skraup consiste en la reacción entre una anilina y un aldehído α, β -insaturado en presencia de ácido; inicialmente, tiene lugar una adición de Michael de la anilina sobre el sistema conjugado, seguida de la ciclación y deshidratación a dihidroquinolina y oxidación del sistema aromático (Esquema 1)⁸⁹.

Esquema 1. Síntesis de Skraup de quinolinas.

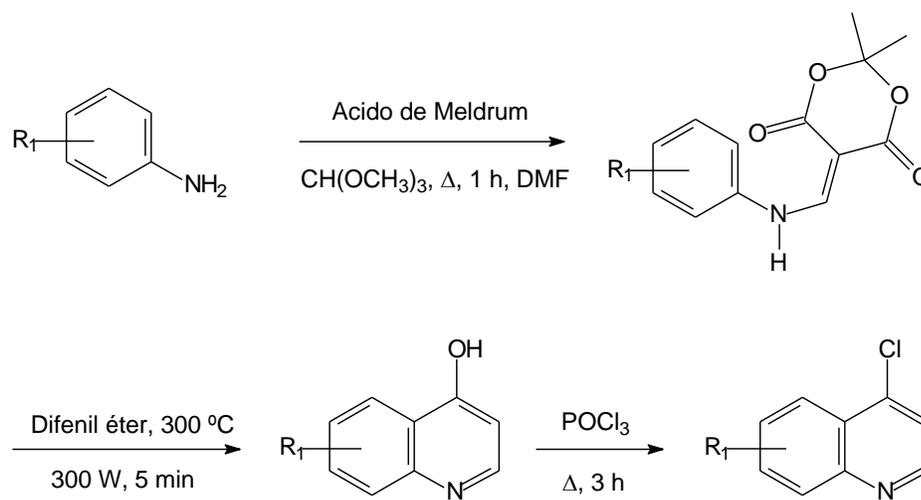


En este último siglo se han realizado varias modificaciones para mejorar el rendimiento y la reproducibilidad de la síntesis Skraup, se han utilizado reactivos como los

ácidos acético o bórico, sulfato ferroso o de vanadio u óxidos de hierro para acelerar la reacción y aumentar el rendimiento. También se realizó una modificación denominada Skraup-Doebner-Von Miller, donde se utilizan ácidos de Lewis como catalizadores, además de iodo⁹⁰. Aunque ha habido un gran desarrollo en la obtención del núcleo de la quinolina, se han presentado varios problemas en las diferentes rutas sintéticas como lo son: condiciones de reacción difíciles, múltiples etapas, o reactivos costosos y/o nocivos⁹¹.

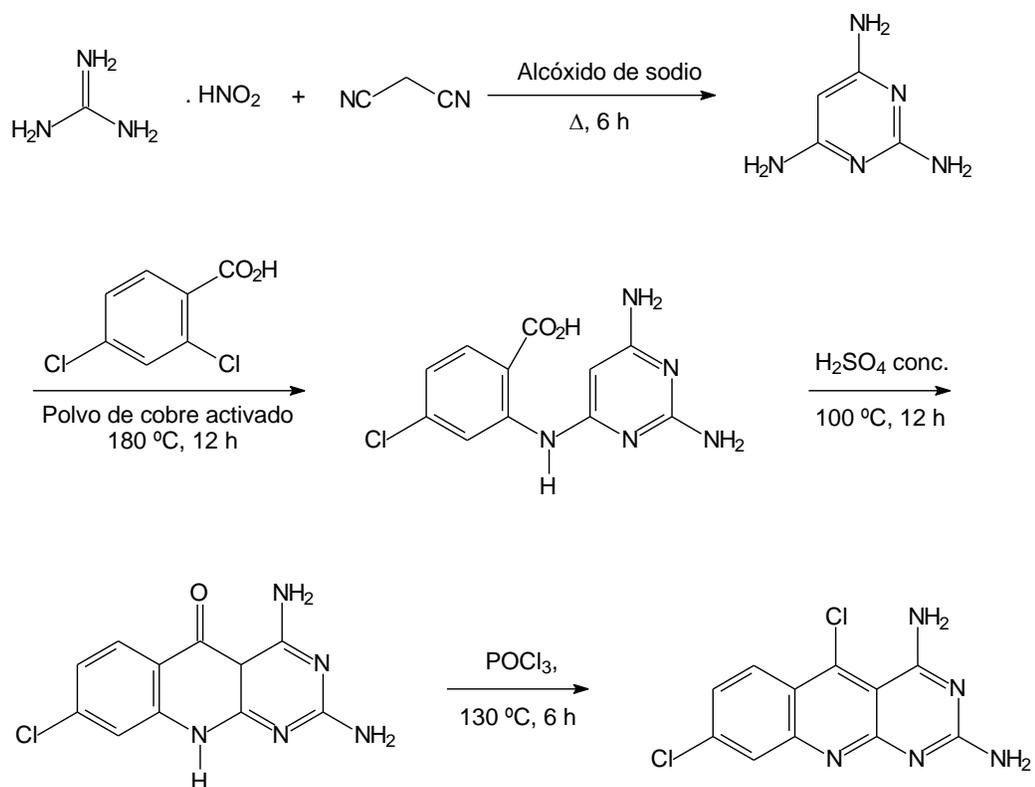
Entre las investigaciones reportadas en esta última década, enmarcadas en el descubrimiento de nuevos derivados de la quinolina con posible actividad antimalárica, se encuentran tanto aquellas donde se realiza la síntesis del anillo de la quinolina, como otras en las que se parte de un reactivo disponible comercialmente que contiene el núcleo ya formado. En el primer grupo cabe la pena destacar la síntesis reportada por Madrid y colaboradores, en la cual la quinolina se obtiene mediante una modificación del método de Price y Roberts en la que se utiliza el ácido de Meldrum's, en vez de éster etoximetilomalónico, este método tiene la ventaja de que se obtiene el producto en dos pasos en vez de cuatro (Esquema 2)⁹².

Esquema 2. Síntesis reportada por Madrid y colaboradores.



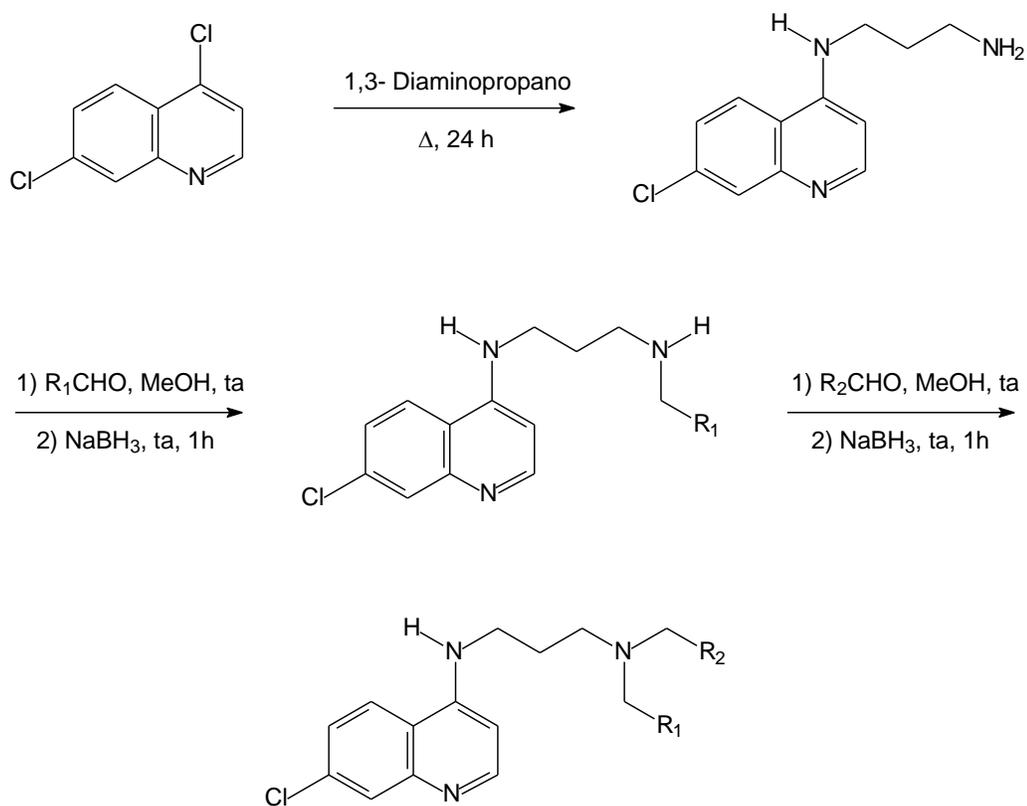
Otra síntesis interesante es la del núcleo pirimido quinolina reportada por Joshi y colaboradores, donde se hace reaccionar la guanidina nitrato con malononitrilo y alcóxido de sodio en etanol seco para formar la 2,4,6-triaminopirimidina que se condensa con el ácido 2,4-diclorobenzoico en presencia de polvo de cobre o bronce a 180 °C para formar el ácido *N*-(2,4-diamino-6-pirimido)-4-cloroantranílico que se cicla utilizando ácido sulfúrico concentrado originando el 10H-5-oxo-2,4-diamino-8-cloropirimido [4,5-*b*] quinolina, que seguidamente se hizo reaccionar con el oxicluro de fósforo para formar la 2,4-diamino-5, 8-dicloropirimido [4,5-*b*] quinolina. Estos compuestos fueron diseñados basándose en un farmacóforo desarrollado para una potente actividad antimalárica usando los programas Chem X y MOE (Esquema 3)⁹³.

Esquema 3. Síntesis reportada por Joshi y colaboradores.



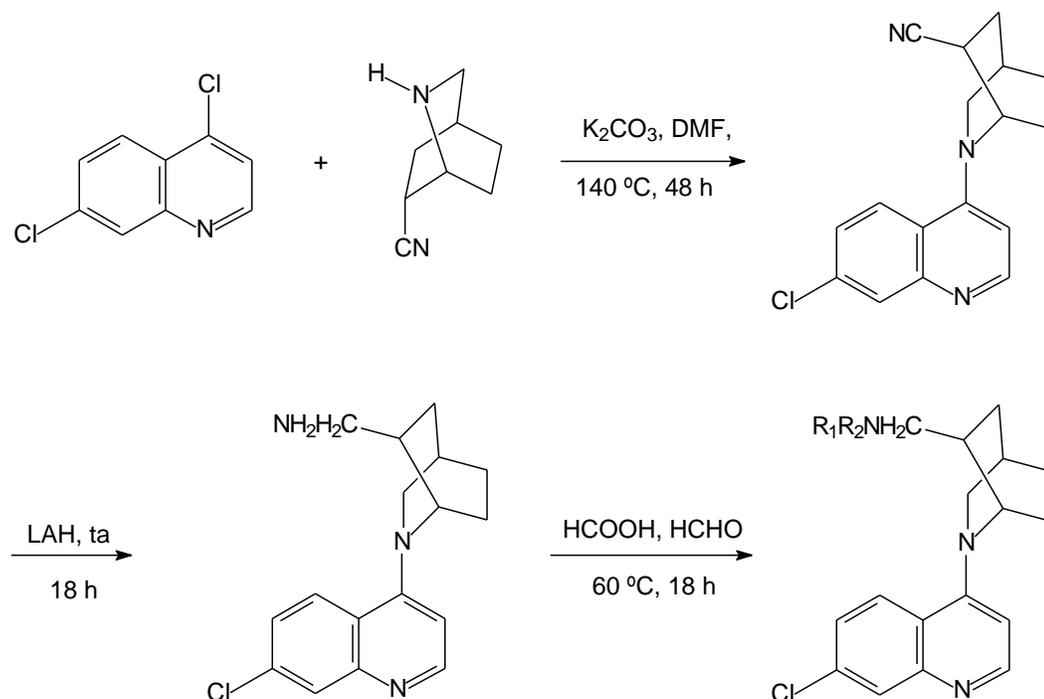
Dentro del segundo grupo de síntesis de derivados obtenidos a partir del núcleo de la quinolina ya formado se puede mencionar el desarrollo de una nueva serie de análogos de la CQ con la cadena lateral más pequeña en la cual se formaron derivados con funcionalidades alquilaminas, con miras a desarrollar una relación estructura actividad para estas modificaciones. La estrategia de síntesis fue desarrollada para generar los compuestos de una manera rápida y con una alta pureza, consistió en hacer reaccionar la 4,7-dicloroquinolina con el 1,3-diaminopropano en reflujo por 24 h, obteniéndose un intermediario tipo amina primaria, la cual fue objeto de dos aminaciones reductivas secuenciales. Se evaluó la actividad antimalárica de todos los compuestos sintetizados frente a *P. falciparum* (Esquema 4)⁹⁴.

Esquema 4. Síntesis de una biblioteca análogos de la CQ.



Otra investigación relevante fue la que realizaron Faruk Khan y colaboradores para lograr análogos semirrígidos de la CQ, donde se partió de la 4,7-dicloroquinolina la cual se hizo reaccionar con isoquinuclidina-6-carbonitrilo en dimetilformamida a una alta temperatura (140 °C) por 48 h, seguidamente se redujo el grupo carbonitrilo con hidruro de aluminio y litio para originar la amina correspondiente con un excelente rendimiento y se realizó la metilación con formaldehído en ácido fórmico para producir la amina secundaria. Todos estos análogos sintetizados mostraron una actividad antimalárica significativa (Esquema 5)⁹⁵.

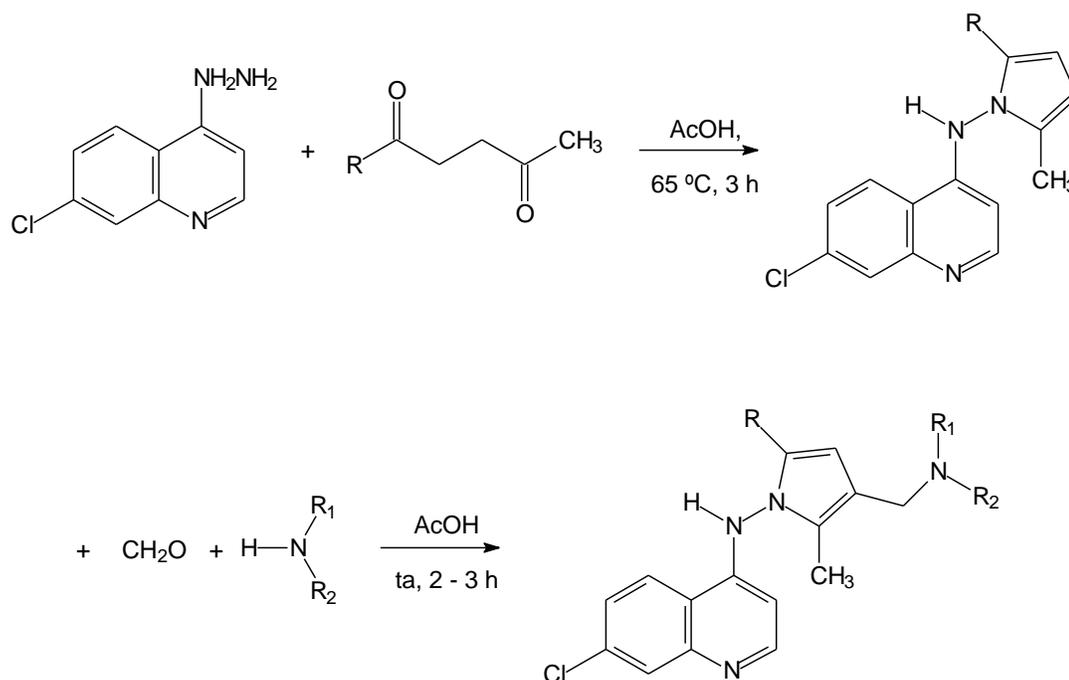
Esquema 5. Síntesis de análogos semirrígidos de la CQ.



Una síntesis interesante fue la que realizaron Casagrande y colaboradores, donde se reemplazó el anillo fenólico de la amodiaquina, tebuquina e isoquina por otro núcleo

aromático como el pirrol. Los derivados 4-(pirrol-1-il) aminoquinolina se obtuvieron en dos pasos condensando la 7-cloro-4-hidrazinoquinolina con 2,5-hexanodiona en ácido acético originando a través de una reacción de Pal-Knorr el derivado pirrol, el cual se hizo reaccionar con formaldehído y la amina apropiada en ácido acético para obtener los compuestos deseados (Esquema 6). Varios de estos compuestos mostraron actividad contra cepas de *P. falciparum* sensibles y resistentes a CQ⁹⁶.

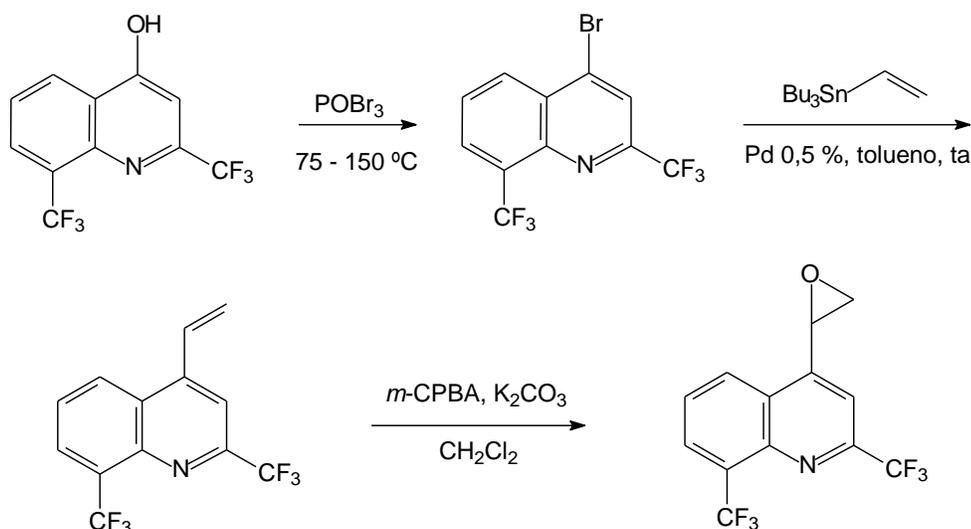
Esquema 6. Síntesis de 4-(pirrol-1-il) aminoquinolina.



Minler y colaboradores, reportaron en el año 2010 el diseño y síntesis de una nueva biblioteca de derivados quinolina-metanol, utilizando la mefloquina como plantilla, con la finalidad de identificar compuestos líderes que posean las propiedades biológicas consistentes con el perfil del blanco para la quimiopprofilaxis de la malaria, mientras se reduce la permeabilidad a través de la barrera hematoencefálica. La estrategia de síntesis

consistió en fundir la 2,8-bis-(trifluorometil)quinolin-4-ol con oxibromuro de fósforo para originar la 4-bromo-2,8-bis-(trifluorometil)quinolina, la cual fue sometida a una reacción de Stille obteniéndose el intermediario vinílico, que mediante una oxidación origina un epóxido que es derivatizado en la posición 4 a través de un mecanismo nucleofílico regioselectivo (S_N2) con apertura del anillo (Esquema 7)⁹⁷.

Esquema 7. Síntesis de los derivados quinolina-metanol.

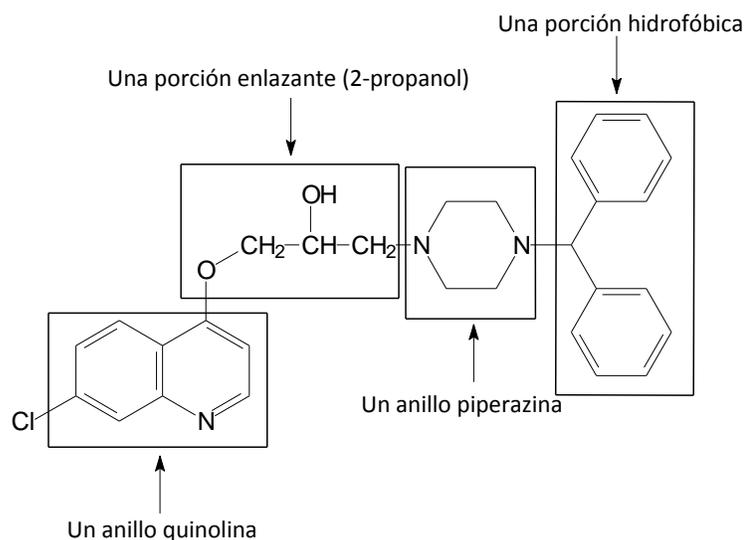


1.3.2. INVESTIGACIONES EN ANTINEOPLÁSICOS DERIVADOS DE LA QUINOLINA

La técnica general para la investigación y desarrollo de nuevos fármacos de reutilización, cambio terapéutico, nuevo perfil o reposicionamiento de fármacos existentes, *repositioning approach*, ha sido una metodología muy efectiva para desarrollar nuevos fármacos, debido a que en estos fármacos conocidos ya se ha estudiado su farmacocinética, su perfil de seguridad y a menudo han sido aprobados por las agencias regulatorias para su uso en humanos⁹⁸. Desde que se demostró la actividad

antiproliferativa y proapoptótica de la CQ y sus congéneres hasta la actualidad, se han realizado una gran cantidad de síntesis de derivados de la quinolina e investigado estas actividades biológicas. Ya en el año 1997 Suzuki y colaboradores, reportaron los rasgos estructurales que deberían tener los derivados de quinolina que ellos sintetizaron para que tuvieran actividad sobre células tumorales resistentes a múltiples fármacos. El análisis de la relación estructura-actividad indicó que en los compuestos altamente activos los dos anillos arilos de la porción hidrofóbica se desvían del plano y son capaces de interactuar con donadores de enlaces de hidrógeno de la glicoproteína P-170, otro rasgo estructural importante son el átomo de nitrógeno en la quinolina y un nitrógeno básico (Figura 35)⁹⁹.

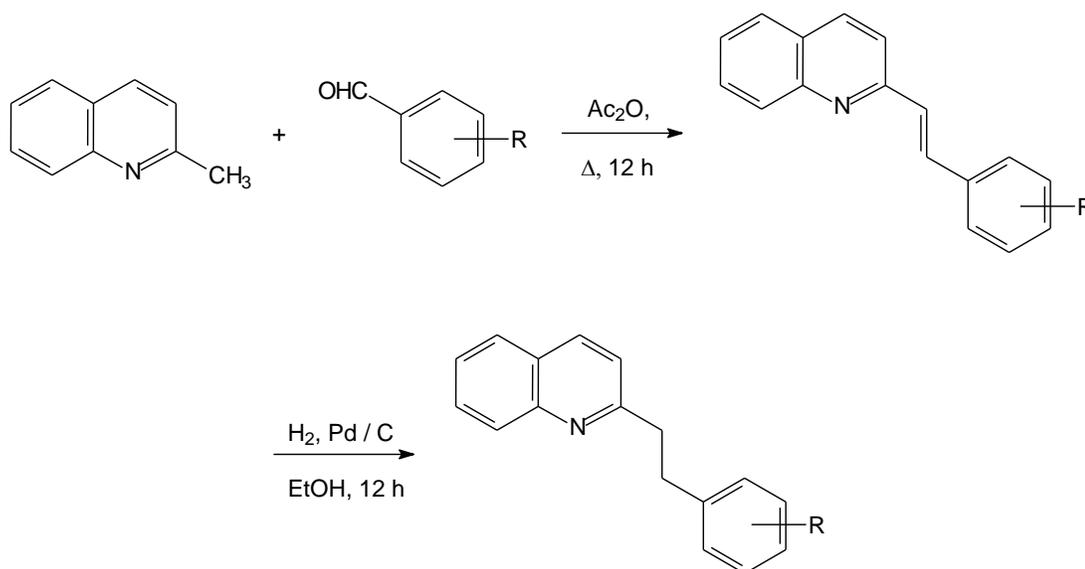
Figura 35. Rasgos estructurales de los análogos de la CQ antineoplásicos.



En el año 2008 Mesa y colaboradores reportaron la síntesis de seis 2-arylquinolinas mediante una condensación de Perkin entre la quinaldina y diferentes aldehídos aromáticos en un reflujo por 12 horas utilizando anhídrido acético como solvente, para formar las estirilquinolinas que posteriormente se redujeron mediante hidrogenación

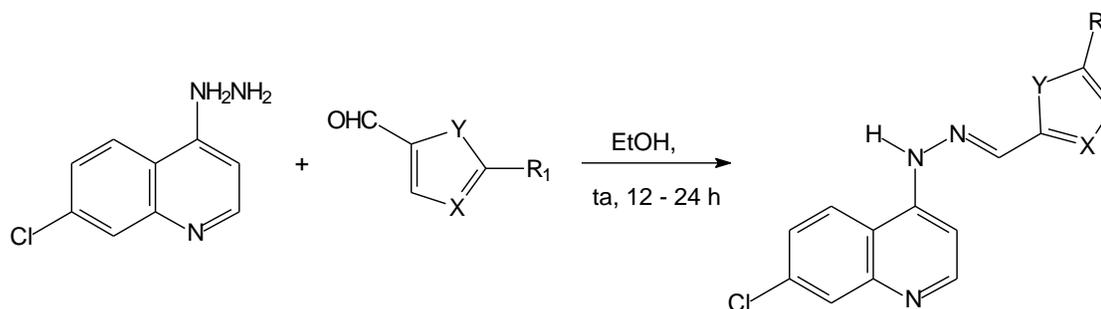
catalítica utilizando paladio al 10 % sobre carbón y etanol como solvente. Todos los compuestos sintetizados mostraron actividad citotóxica contra la línea celular promonocítica humana U937 (Esquema 8)¹⁰⁰.

Esquema 8. Síntesis de las 2-arylquinolinas con posible actividad leishmanicida y citotóxica.



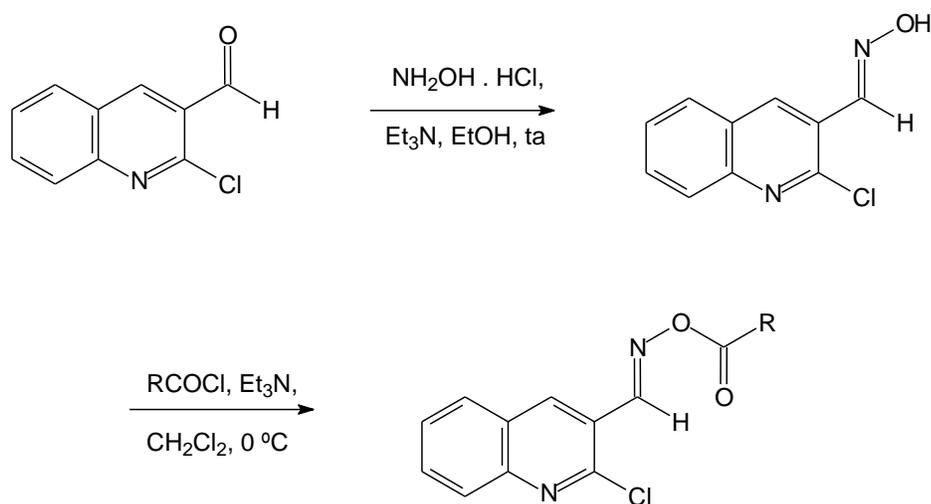
En estos últimos dos años se ha incrementado enormemente la síntesis de derivados de la quinolina, análogos de la CQ, con posible actividad antineoplásica, entre las investigaciones más recientes se encuentra la realizada por Carvalho y colaboradores que reportan la síntesis de una serie de derivados heteroarómicos-7-cloro-4-quinolinilhidrazonas y evaluaron su actividad contra cuatro líneas celulares de cáncer. Los núcleos heterocíclicos seleccionados fueron: furano, tiofeno, pirrol e Imidazol. Estos compuestos fueron obtenidos a través de una reacción entre la 7-cloro-4-hidrazino quinolina y los aldehídos apropiados durante 12 a 24 horas a temperatura ambiente. Los compuestos preparados mostraron una buena actividad citotóxica contra las líneas celulares ensayadas, especialmente en células de melanoma MDAMB-435 (Esquema 9)¹⁰¹.

Esquema 9. Síntesis de los derivados 7-cloro-4-quinolinilhidrazona- heteroarómicos.



Otra investigación reciente la constituye la realizada por Bindu y colaboradores, quienes sintetizaron nuevos derivados tipo ésteres 2-cloro-3-formil quinolinil oximas, mediante la condensación de 2-cloro-3-formilquinolina con clorhidrato de hidroxilamina en presencia de trietilamina, para obtener la correspondiente quinolina-oxima, la cual se hace reaccionar con los diferentes cloruros de benzoilo en diclorometano a 0 °C para obtener los compuestos deseados (Esquema 10).

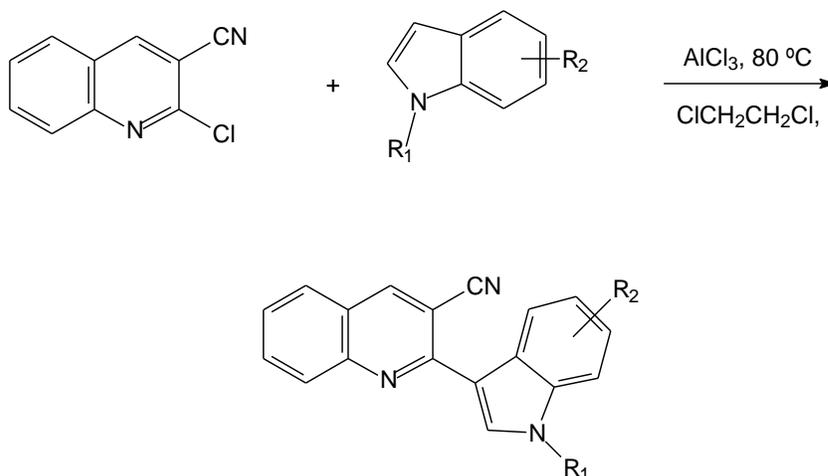
Esquema 10. Síntesis de los derivados 2-cloro-3-formil quinolinil oximas.



La habilidad de estos compuestos para escindir el ADN se determinó cuantitativamente midiendo su efectividad para convertir un plásmido del ADN super enrollado (forma I) a la circular (forma II)¹⁰².

El grupo de investigadores encabezados por Kumar, muy recientemente reportó la síntesis de unos derivados 2-(1H-indol-3-il)quinolina-3-carbonitrilo que fueron obtenidos, utilizando tricloruro de aluminio para la formación del enlace carbono-carbono entre la 2-cloroquinolina-3-carbonitrilo y varios índoles, esta metodología no requiere la protección de ningún nitrógeno de los índoles empleados y proporciona los productos correspondientes en buenos rendimientos. El mecanismo de la reacción procede a través de la formación de un complejo entre el tricloruro de aluminio y el anillo nitrogenado de la quinolina, seguido de un ataque nucleofílico del carbono tres del indol al carbono dos de la quinolina. Muchos de estos compuestos sintetizados mostraron propiedades inhibitorias de la enzima fosfodiesterasa tipo 4 que es una enzima que cataliza la reacción de hidrólisis del fosfato cíclico del adenosín monofosfato cíclico que es un regulador importante de procesos fisiológicos (Figura 11)¹⁰³.

Esquema 11. Síntesis de los derivados 2-(1H-indol-3-il)quinolina-3-carbonitrilos.

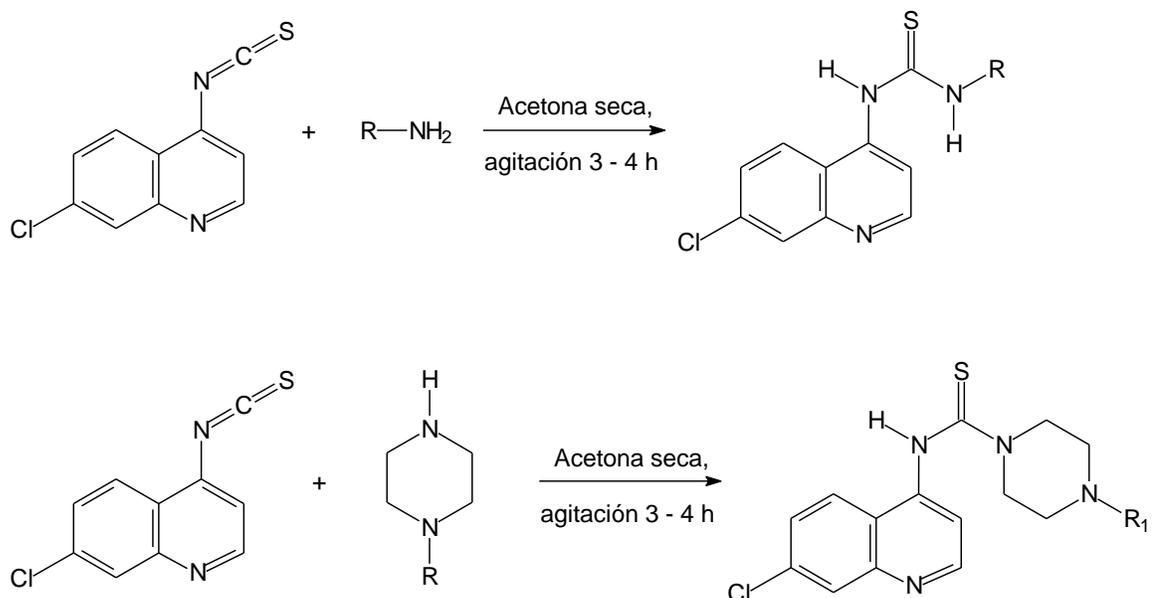


1.3.3. DERIVADOS DE LA QUINOLINA ANTIMALÁRICOS Y ANTINEOPLÁSICOS

El descubrimiento de que un fármaco como la CQ, que se había utilizado desde 1946 en todo el mundo como antimalárico, recientemente se reportó que era útil como antineoplásico debido a sus potenciales efectos biológicos en células cancerosas, ha hecho que se realicen investigaciones en estos derivados, que puedan tener una acción dual contra malaria y cáncer.

Entre estas investigaciones realizadas se encuentra la de Mahajan y colaboradores, reportaron la síntesis de dos series de nuevos derivados 7-cloroquinoliniltiúrea obtenidos a partir de las correspondientes 4,7-dicloroquinolina isocianato cuando son tratadas con una cantidad equimolar de la amina/piperazina con agitación de 3 a 4 horas utilizando acetona seca como solvente para obtener los derivados (Figura 12).

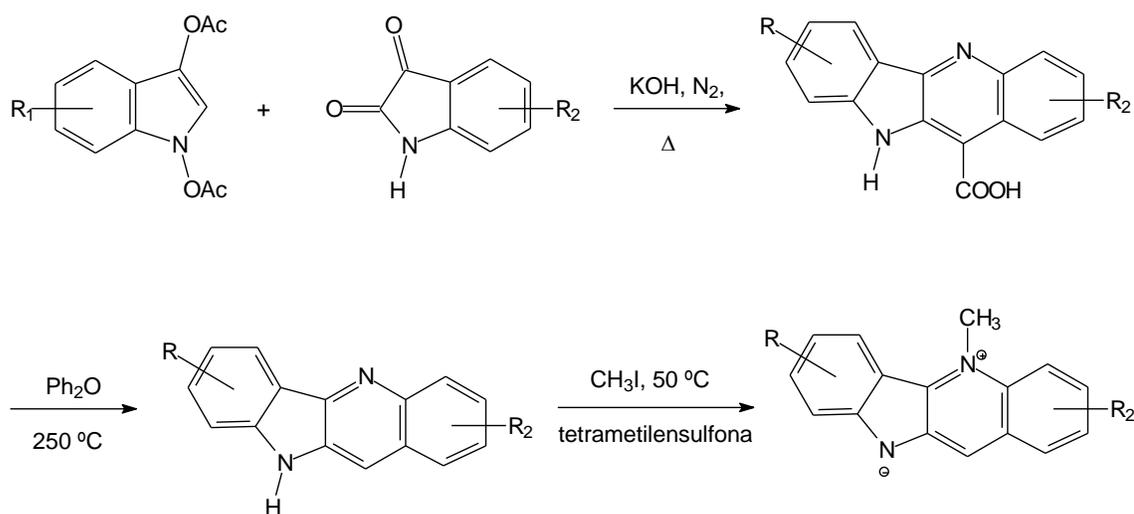
Esquema 12. Síntesis de los derivados 2-(1H-indol-3-il)quinolina-3-carbonitrilos.



La actividad antimalárica y antineoplásica de estos derivados fue evaluada *in vitro*, el compuesto más activo mostró un valor de CI_{50} de $1,2 \mu M$ contra el *P. falciparum* cepa D10 y una baja citotoxicidad hacia las células HeLa, lo que es indicativo de selectividad hacia el parásito¹⁰⁴.

En este mismo orden Onyeibor y colaboradores reportaron la síntesis de una serie de análogos de la criptolepina que se realizó mediante la condensación de la *O*, *N*-acetilindoxilo o sus derivados con la isatina o sus derivados en presencia de hidróxido de potasio bajo atmosfera de nitrógeno, para originar los correspondientes derivados ácidos quinolina condensados 11-carboxilicos que seguidamente se decarboxilaron mediante calentamiento en difeniléter y posteriormente metilados usando yodometano en tetrametilensulfona (Figura 13). Estos análogos fueron evaluados *in vitro* para determinar su posible actividad antimalárica y citotóxica, los valores de CI_{50} de varios derivado contra la cepa K1 de *P. falciparum* derivados fue $< 0,1 \mu M$ y no presentaron toxicidad en los ratones ensayados¹⁰⁵.

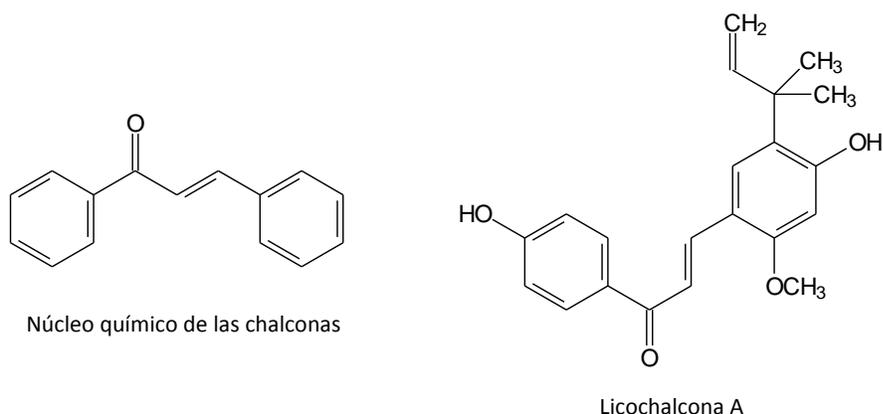
Esquema 13. Síntesis de derivados de la Criptolepina.



1.3.4. CHALCONA: NÚCLEO QUÍMICO PRESENTE EN ANTIMALÁRICOS Y ANTINEOPLÁSICOS

Las chalconas, compuestos que presentan el núcleo químico 1, 3-difenil-2-propen-1-ona, han mostrado tener una amplia variedad de actividades biológicas entre las que se encuentran antiinflamatoria, antimalárica y citotóxica-antitumoral. La actividad antimalárica de las chalconas fue observada por primera vez cuando se reportó que la licochalcona A, un producto natural aislado de las raíces de la planta *Glycyrrhiza inflata*, conocida como licoriza China presentaba una potente actividad frente al parásito de la malaria, tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo*¹⁰⁶ (Figura 36).

Figura 36. Estructura del núcleo chalcona y de la Licochalcona A.



El amplio rango de actividad biológica de las chalconas depende del patrón de sustitución en los dos anillos aromáticos, se ha reportado que una serie de chalconas con posiciones hidroxiladas han demostrado actividad antimitótica frente a líneas celulares K 562 de leucemia humana¹⁰⁷. Otro estudio más reciente reveló que chalconas sustituidas con el grupo amino en diferentes posiciones mostraron una citotoxicidad potente frente a un panel de líneas celulares tumorales¹⁰⁸.

1.4. MODIFICACIÓN MOLECULAR: OPTIMIZACIÓN DE UN PROTOTIPO

La exploración sistemática de la estructura química de un compuesto líder o prototipo con el objetivo principal de optimizar sus propiedades farmacológicas y farmacocinéticas, es lo que se conoce con el nombre de modificación molecular o farmacomodulación. Se debe diferenciar un compuesto líder o prototipo de un *hit*, entendiéndose por prototipo un compuesto, de cualquier origen, con actividad en relación con un determinado blanco terapéutico, mientras que el término "*hit*", fue introducido recientemente para describir el ligando o análogo activo de baja afinidad o eficacia lo que representa una etapa anterior a la identificación del compuesto líder o prototipo¹⁰⁹.

La farmacomodulación, a pesar de ser una metodología en gran parte empírica, presenta una serie de ventajas que han hecho que su aplicación esté aún vigente a pesar de la existencia de novedosas disciplinas y técnicas como la biotecnología, la bioinformática y nuevas metodologías como las "*omicas*" (genómica, proteómica, metabolómica, etc.). Este proceso de búsqueda de fármacos suele ser más productivo que ensayar nuevos compuestos, aislados o sintetizados al azar, debido a que se pueden usar los mismos métodos de síntesis y de ensayos biológicos del prototipo, además se puede avanzar en el conocimiento de la porción de la estructura del fármaco que interactúa con el blanco farmacológico, y por tanto, es la responsable de la acción biológica a nivel molecular, esto es lo que se conoce como *farmacóforo*¹¹⁰.

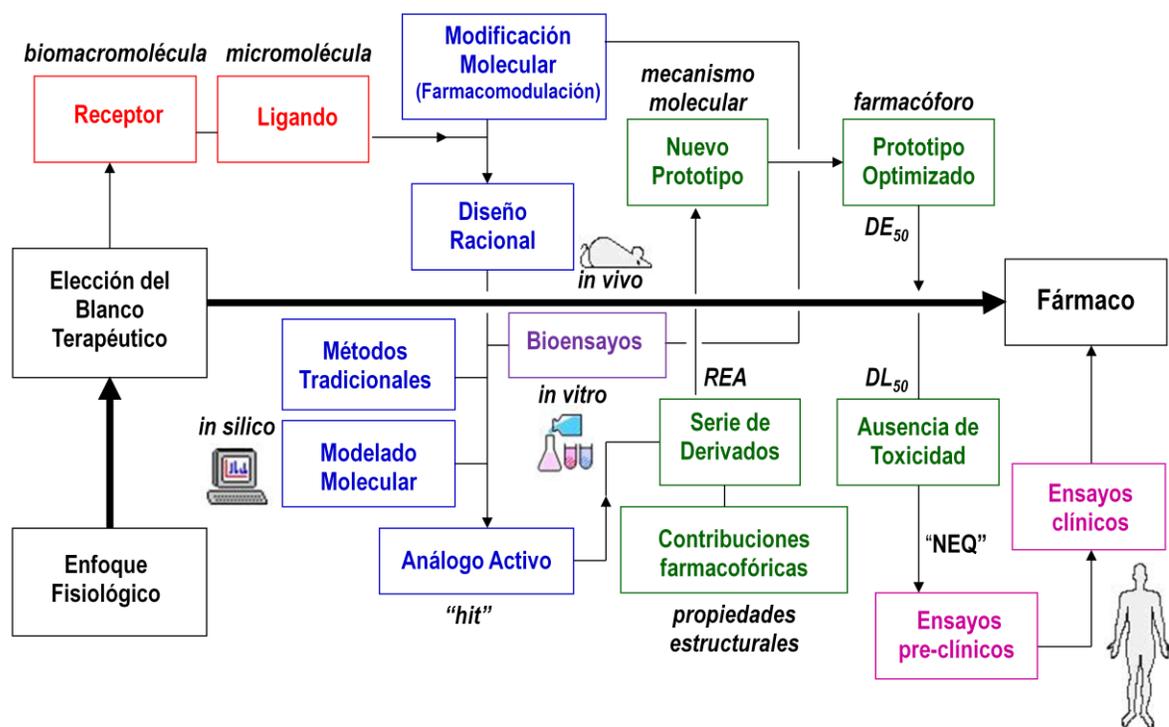
Las modificaciones estructurales tendentes a modular algunos de los aspectos del espectro de actividades que pueden presentar los prototipos son el proceso inicial en el descubrimiento de un nuevo fármaco y su desarrollo posterior (figura 37) y se realiza con la siguiente finalidad¹⁰⁹:

1. Mantenimiento o mejora de la actividad: Se busca la obtención de fármacos que presenten mayor actividad, mejor selectividad y menor toxicidad.

2. Cambios en el espectro de acción: Se incluyen cambios controlados para eliminar efectos secundarios, diferenciar y separar actividades de prototipos que presentan varias actividades, transformar una actividad agonista en antagonista, entre otros.

3. Modificación de las propiedades farmacocinéticas: Se realizan modificaciones de estas propiedades sin variar la actividad farmacológica como son cambios para proteger el compuesto de inactivaciones, modulación de la relación concentración/tiempo, entre otras¹¹⁰.

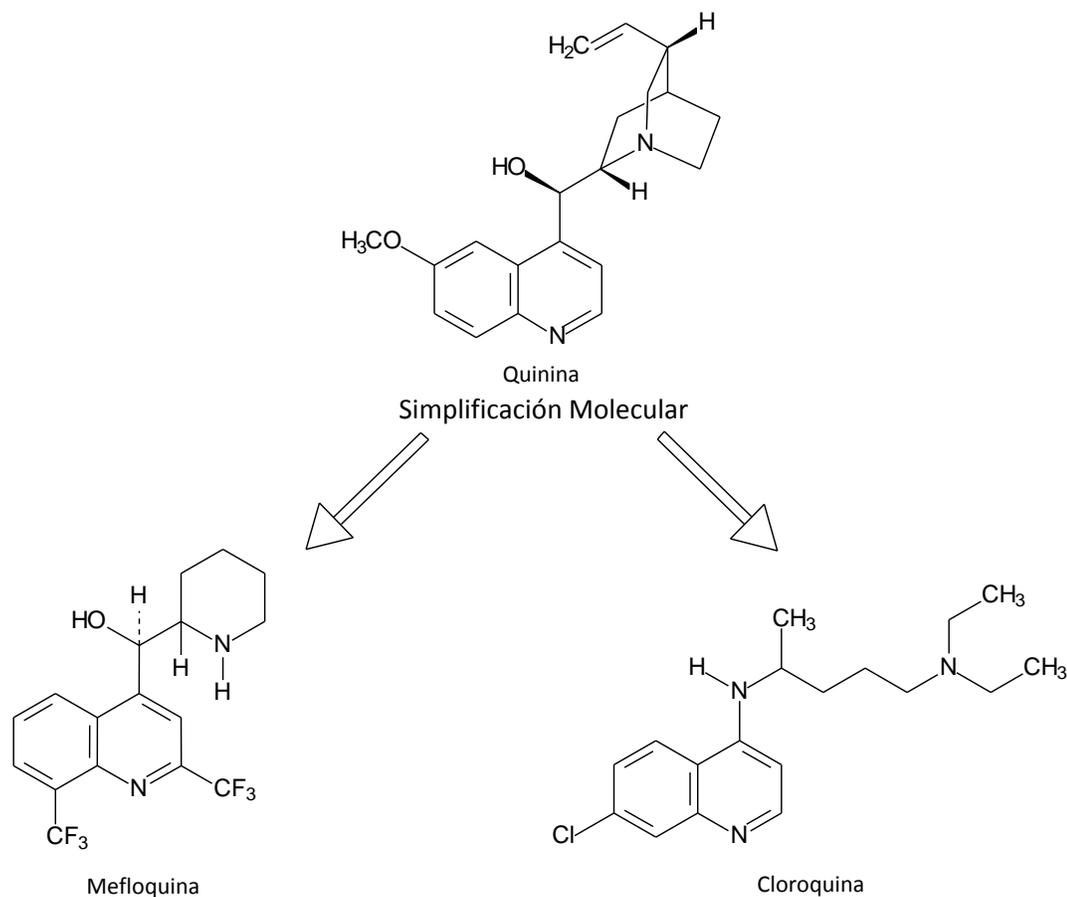
Figura 37. Etapas en el descubrimiento y desarrollo de un nuevo fármaco.



Existen varias estrategias o técnicas generales con las que se puede realizar la farmacomodulación de un prototipo, también conocidas como métodos tradicionales, entre los que se encuentran las siguientes aproximaciones:

1. Aproximación disyuntiva: Este método se conoce tradicionalmente como simplificación molecular o variación molecular disyuntiva, se basa en la reducción del prototipo hasta conservar el fragmento esencial para la actividad o *farmacóforo*, se aplica fundamentalmente a productos naturales con núcleos policíclicos, en la que se procede a la apertura de uno o más ciclos y a la supresión de las partes de la molécula que se consideran innecesarias o no esenciales para la actividad. Como ya se expresó anteriormente, la aplicación de este principio condujo a las estructuras de varias familias de derivados como las 4-aminoquinolina y los quinolinilmetanoles (Figura 38)⁶³.

Figura 38. Variación disyuntiva de la Quinina.



2. Aproximación analógica: Este método se basa en una transformación limitada del prototipo, conservando los aspectos estructurales esenciales del mismo, cabe destacar que estas modificaciones estructurales, por simples que sean, pueden incidir tanto en las propiedades fisicoquímicas de los compuestos (coeficiente de reparto, lipofilicidad, etc.) como en su capacidad unión con su blanco terapéutico. Existen varios criterios clásicos para realizar esta modificación molecular se encuentran: Apertura de anillos, formación de anillos, homología, vinilogía, saturación de dobles enlaces y sustitución isostérica¹¹¹.

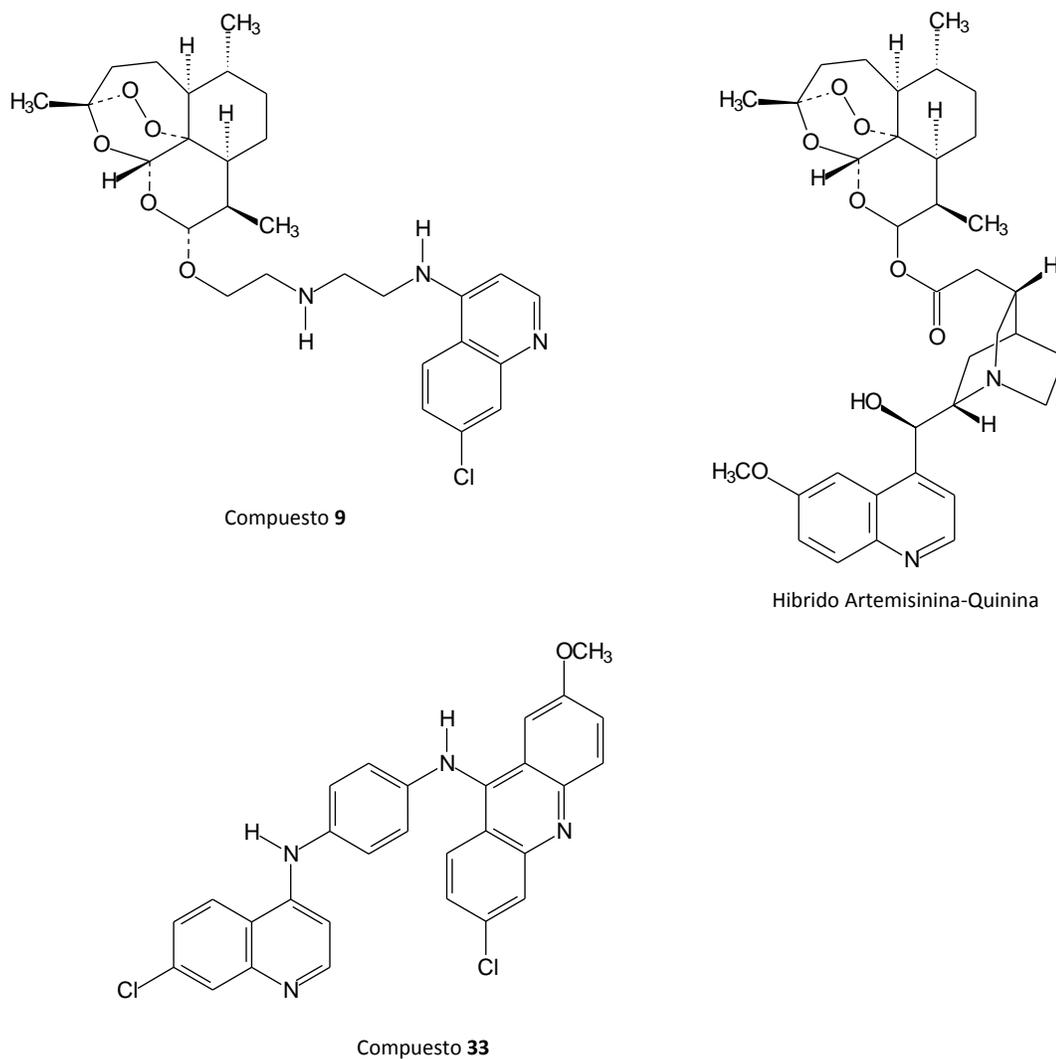
3. Aproximación conjuntiva: Este método también se conoce con el nombre de asociación molecular, consiste en obtener un nuevo compuesto derivado de la unión de dos prototipos, generalmente mediante un enlace covalente, con el fin de obtener un nuevo compuesto que presente propiedades farmacológicas comunes a los dos prototipos. Dichos compuestos, estructuralmente más complejos, pueden proceder tanto de la combinación de dos moléculas idénticas, lo que recibe el nombre de duplicación molecular, fármacos gemelos, fármacos siameses o *twin drugs*, como de dos moléculas diferentes lo que recibe el nombre de hibridización molecular¹¹².

1.4.1. FARMACOMODULACIÓN EN DERIVADOS DE LA QUINOLINA

Recientemente se han realizado varias investigaciones donde se ha empleado el método de hibridización molecular en la búsqueda de nuevos compuestos con actividad antimalárica, entre las cuales cabe destacar la síntesis reportada por Lombard y colaboradores de seis compuestos (**9-14**) resultantes del acoplamiento de diferentes fragmentos de aminoquinolinas con dihidroartemisinina, los cuales mostraron una potencia *in vitro* comparable a la de la CQ¹¹³. En este mismo contexto Walsh y colaboradores realizaron la síntesis de un híbrido artemisinina-quinina mediante el acoplamiento de la dihidroartemisinina con un derivado ácido carboxílico de la quinina, vía formación de un enlace covalente tipo éster. Estos nuevos derivados mostraron una

potente actividad contra las cepas *P. falciparum* resistentes a fármacos 3D7 y FcB1¹¹⁴. Otra investigación reportada aplicando esta estrategia de farmacomodulación es la realizada por Kumar y colaboradores, en la que reportaron la síntesis de nuevos derivados híbridos quinolina-acridina (**29-34**) y la evaluación *in vitro* contra la cepa de *P. falciparum* NF 54, de los compuestos evaluados dos fueron equipotentes con la CQ que es el fármaco de referencia (Figura 39)¹¹⁵.

Figura 39. Derivados híbridos con actividad antimalárica.



ANTECEDENTES

2.- ANTECEDENTES

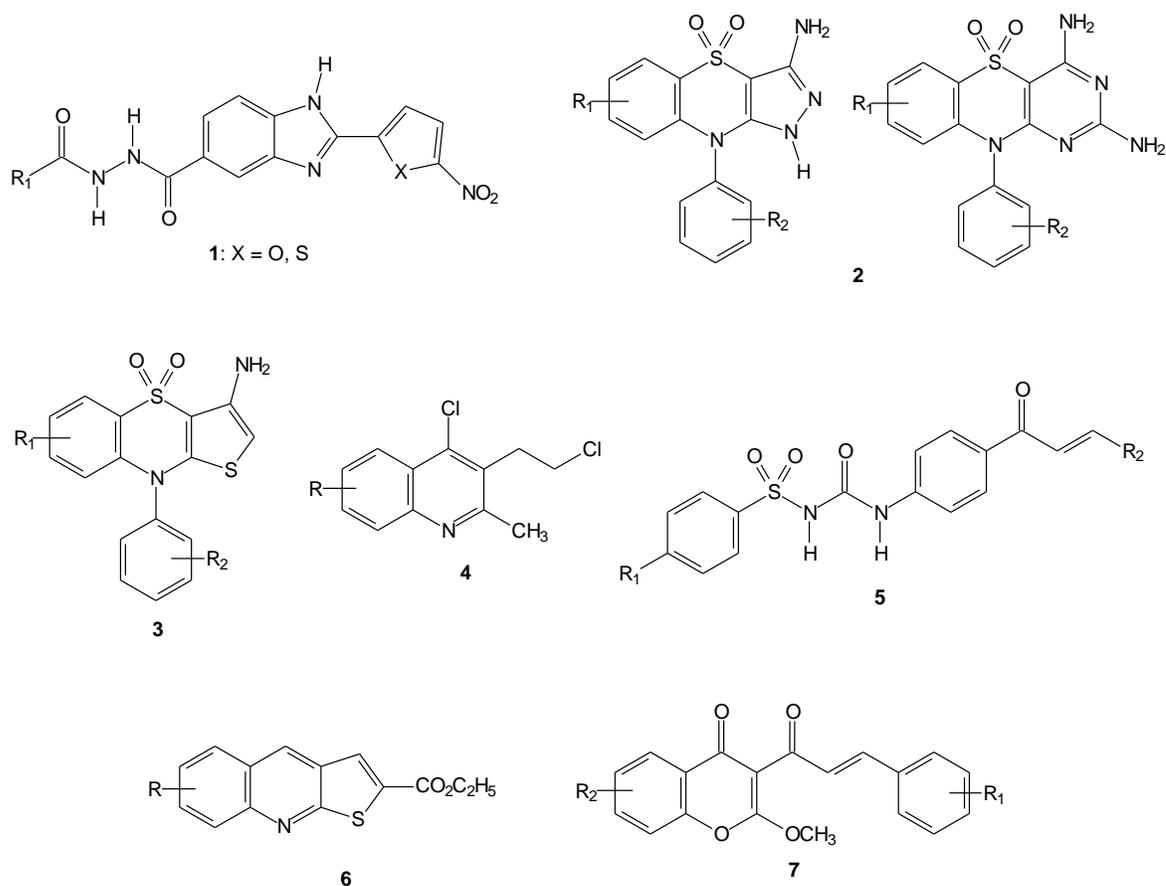
En virtud del grave problema que significan enfermedades tan recurrentes a nivel mundial como la malaria y el cáncer, el grupo de investigadores del Laboratorio de Síntesis Orgánica, conjuntamente con investigadores de otros países, han tenido como norte la búsqueda de nuevos compuestos que sean activos contra estas temibles enfermedades. Esta iniciativa multidisciplinaria, comprende la síntesis, caracterización estructural, evaluación de la posible actividad biológica y modelado molecular de series de compuestos potencialmente activos, entre los que se encuentran:

Una serie de derivados 2-(5-nitrofuran o 5-nitrotiofeno-2-il)-3H-benzo [d] bencimidazol-5-carboxamida, **1**¹¹⁶, derivados 3-amino-7-cloro-9-(2-metilfenil)-1,9-dihidro pirazolo [4, 3-b] benzotiazina-4,4-dióxido y 2,4-diamino-8-cloro-10H-fenilpirimido [5,4-b] benzotiazina-5, 5-dióxido, **2**¹¹⁷, derivados 3-amino-9-arilsustituido-tieno [3, 2-b] benzo tiazina-S,S-dióxidos, **3**¹¹⁸, derivados 4-cloro-3-(2-cloroetil)-2-metilquinolinas, **4**¹¹⁹, derivados sulfonilúreas, **5**¹²⁰, derivados del ácido tieno [2, 3-b] quinolina-2-carboxílico, **6**¹²¹, a los cuales se les evaluó su habilidad para inhibir la formación de la β -hematina *in vitro*, inhibir la hidrólisis de la hemoglobina y la eficacia antimalárica *in vivo* en ratones infectados con *P. berghei*. En este mismo contexto se reportó la síntesis de derivados tipo isoflavonas, en el cual uno de los compuestos sintetizados resultó ser activo *in vitro* contra la cepa de *P. falciparum* W2, resistente a CQ, con un CL₅₀ de 2,89 μ M, **7**¹²² (Figura 40).

Otro estudio realizado consistió en la determinación de las estructuras de los cristales de los compuestos 3-amino-6-metoxi-9-metil-1H-pirazolo [3,4-b] quinolin-4-ona y 2,4-diamino-10-metil-9-metoxipirimido [4,5-b] quinolin-5-ona, con moderada actividad antimalárica y en la cual se observó que ambas moléculas son esencialmente planas, incluyendo los grupos exocíclicos, la actividad antimalárica parece estar relacionada con la formación de un enlace puente de hidrógeno intramolecular entre el N-H y el C=O, en las

dos estructuras de los cristales se observó una red extensiva de enlaces puentes de hidrógeno¹²³.

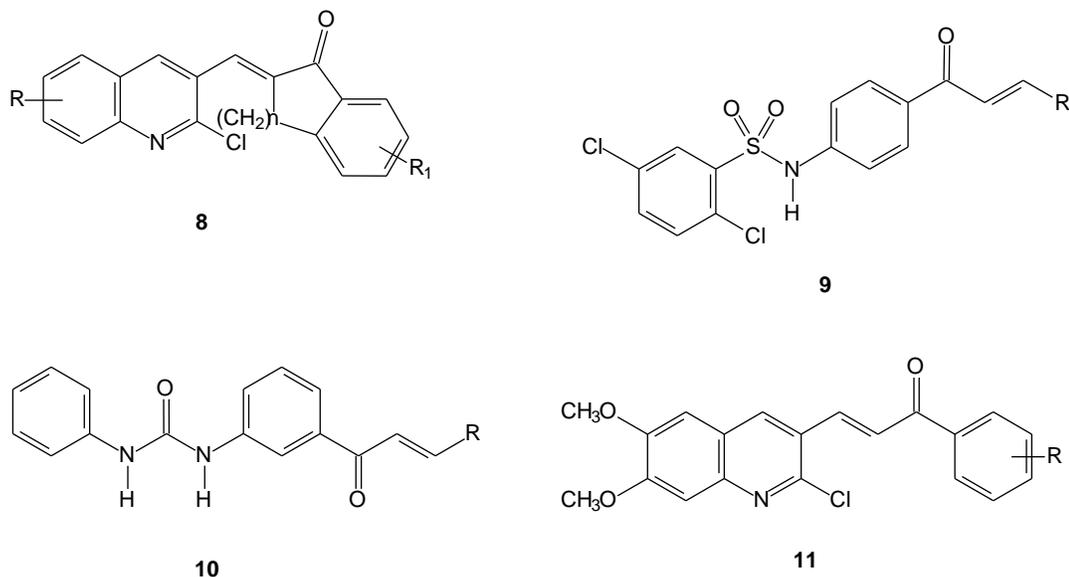
Figura 40. Derivados sintetizados como antimaláricos potenciales.



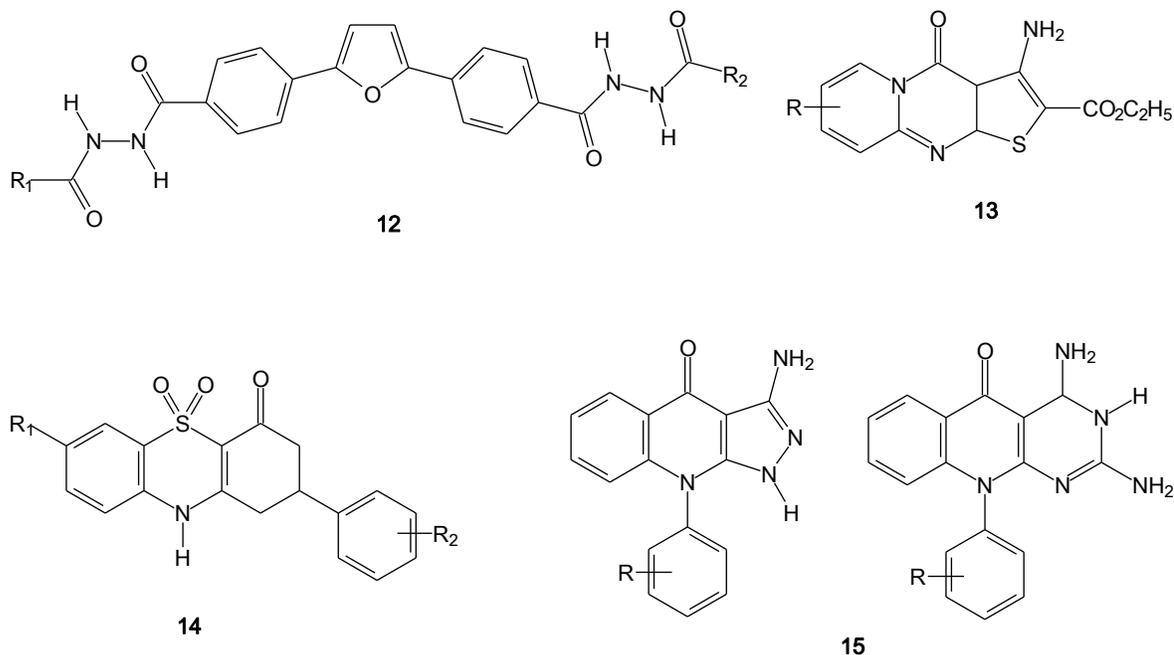
También se sintetizaron y evaluaron su posible actividad antimalárica *in vitro* mediante el ensayo de la inhibición de la formación de β -hematina, la inhibición de la hidrólisis de la hemoglobina e *in vivo* mediante el protocolo en *P. berghei*, de algunos compuestos que contienen en su estructura el núcleo de la quinolina y el fragmento chalcona, entre los que se encuentran: Derivados *E*-2-quinolinilbenzocicloalcanonas, **8**¹²⁴,

derivados sulfonamidas chalconas, **9**¹²⁵, derivados fenilurenil chalconas, **10**¹²⁶ y derivados quinolinil chalconas, **11**¹²⁷ (Figura 41).

Figura 41. Derivados de la quinolina y de la chalcona.



Otros compuestos, estructuralmente poco relacionados entre sí, como péptidos, pirazoles, fenotiazinas, quinolonas, entre otros, también han mostrado resultados satisfactorios en ensayos antimaláricos *in vitro*, entre los que se encuentran derivados 2,5-bis-[4-(benzhidrazido) fenil]furano, **12**¹²⁸, derivados 3-amino-2-etoxi-carbonil pirido [1,2-a] tieno [2,3-d] pirimidin-4-ona, a los que se le determinó conjuntamente actividad antimalárica y citotóxica *in vitro*, **13**¹²⁹. Se encuentran también entre los compuestos ensayados derivados de la fenotiazina 5,5-dióxidos, **14**¹³⁰. Otro tipo de compuestos sintetizados y evaluados como posibles antimaláricos frente a *P. falciparum* resistente a cloroquina, fueron derivados de la quinolona, condensados con un anillo pirazol y con un anillo de pirimidina, **15**¹³¹ (Figura 42).

Figura 42. Derivados estructuralmente poco relacionados con posible actividad antimalárica.

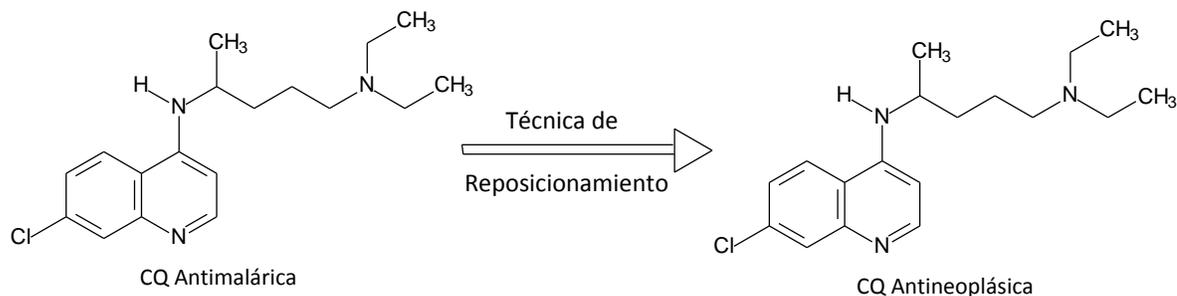
Más recientemente, nuestro grupo de investigación reportó la síntesis de derivados de la quinolina, análogos de la CQ, entre las que se encuentran: la síntesis de derivados 7-cloroquinolin-4-il-tio, a los que se les evaluó simultáneamente su potencial actividad antimalárica y antineoplásica, y estos compuestos redujeron la viabilidad celular de la línea celular de cáncer de próstata humano PC-3 y LNCaP *in vitro* e *in vivo*¹³². Con anterioridad ya se había realizado y reportado la síntesis de derivados [(7-cloroquinolin-4-il)amino]chalconas en los cuales se observó que presentan una potencial actividad antimalárica que cursa por la inhibición de la formación de la β -hematina e inhibición de la proteólisis de la hemoglobina *in vitro* y en cuanto a la evaluación de la posible actividad antitumoral, se reportó que los compuestos inducen apoptosis celular en células de cáncer de próstata además de la inhibición de proteosoma y supresión de la angiogénesis¹³³.

JUSTIFICACIÓN

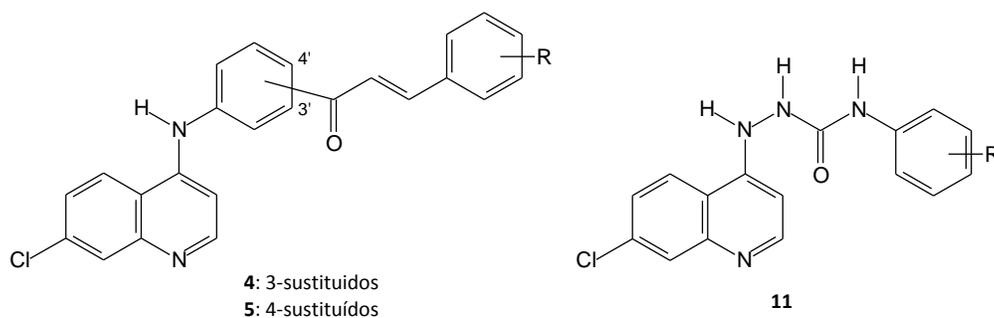
3.- JUSTIFICACIÓN

Sobre la base de lo anteriormente expuesto y en la continua búsqueda de nuevos agentes que puedan ser eficaces en la profilaxis y tratamiento de patologías tan letales a nivel mundial, como la Malaria y el Cáncer, se presenta la síntesis de una serie de derivados 7-cloro quinolina-4-sustituídos, su caracterización estructural y evaluación de sus posibles actividades antimalárica, antiproliferativa y proapoptótica, como un aporte importante al diseño y desarrollo de nuevos agentes que puedan presentar una posible doble acción contra estas terribles enfermedades (Figura 43).

Figura 43. Derivados 7-cloro-4-quinolinasustituídos propuestos.

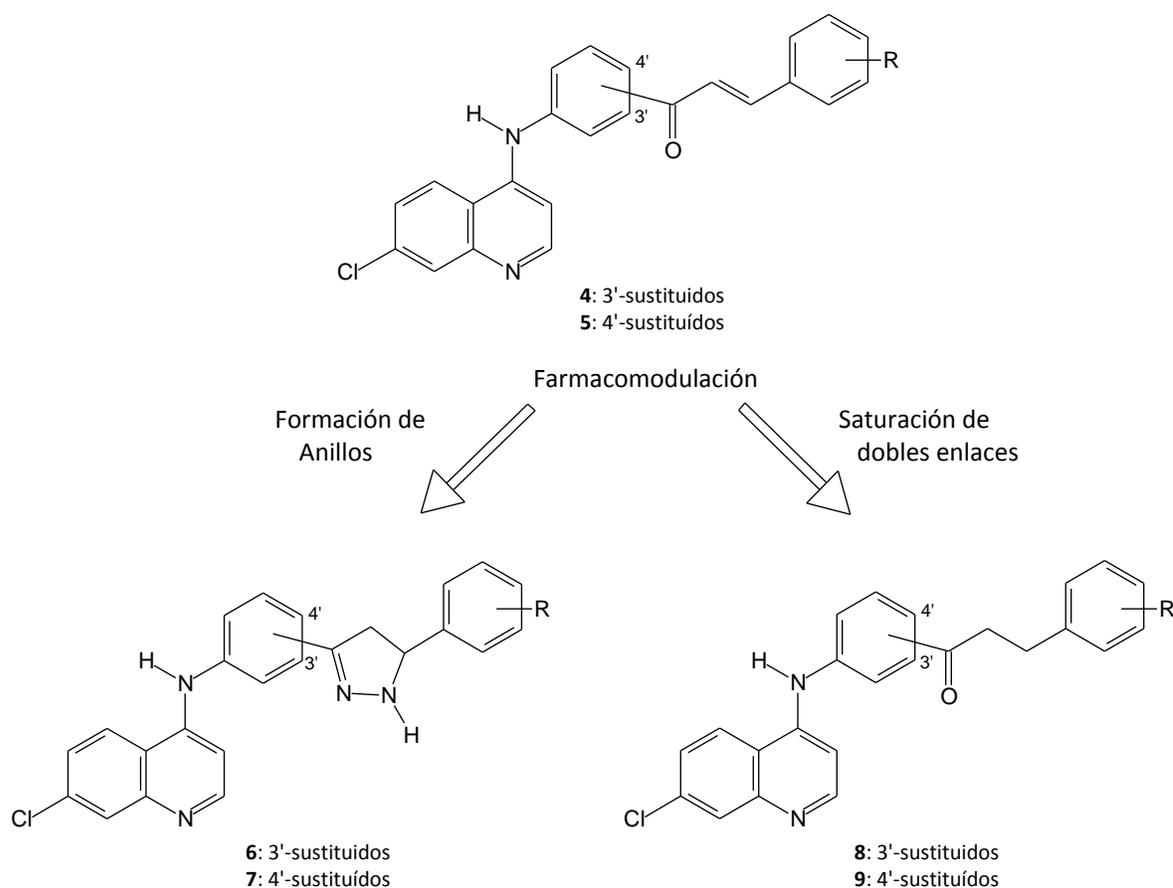


Derivados Antimaláricos-Antineoplásicos



En este contexto planteamos el empleo de la metodología tradicional de la Química Medicinal para la farmacomodulación de los compuestos **4** y **5**, en la cetona α,β -insaturada, para obtener tanto derivados donde se rigidiza esta funcionalidad al formar el anillo Δ^2 -pirazolina, como derivados donde se flexibiliza, con miras a determinar la variación de las actividades biológicas (antimalárica y antineoplásica) en estos compuestos después de esta modificaciones moleculares (Figura 44).

Figura 44. Diseño de nuevos derivados por farmacomodulación de la funcionalidad cetona α,β -insaturada.



OBJETIVOS

4.- OBJETIVOS

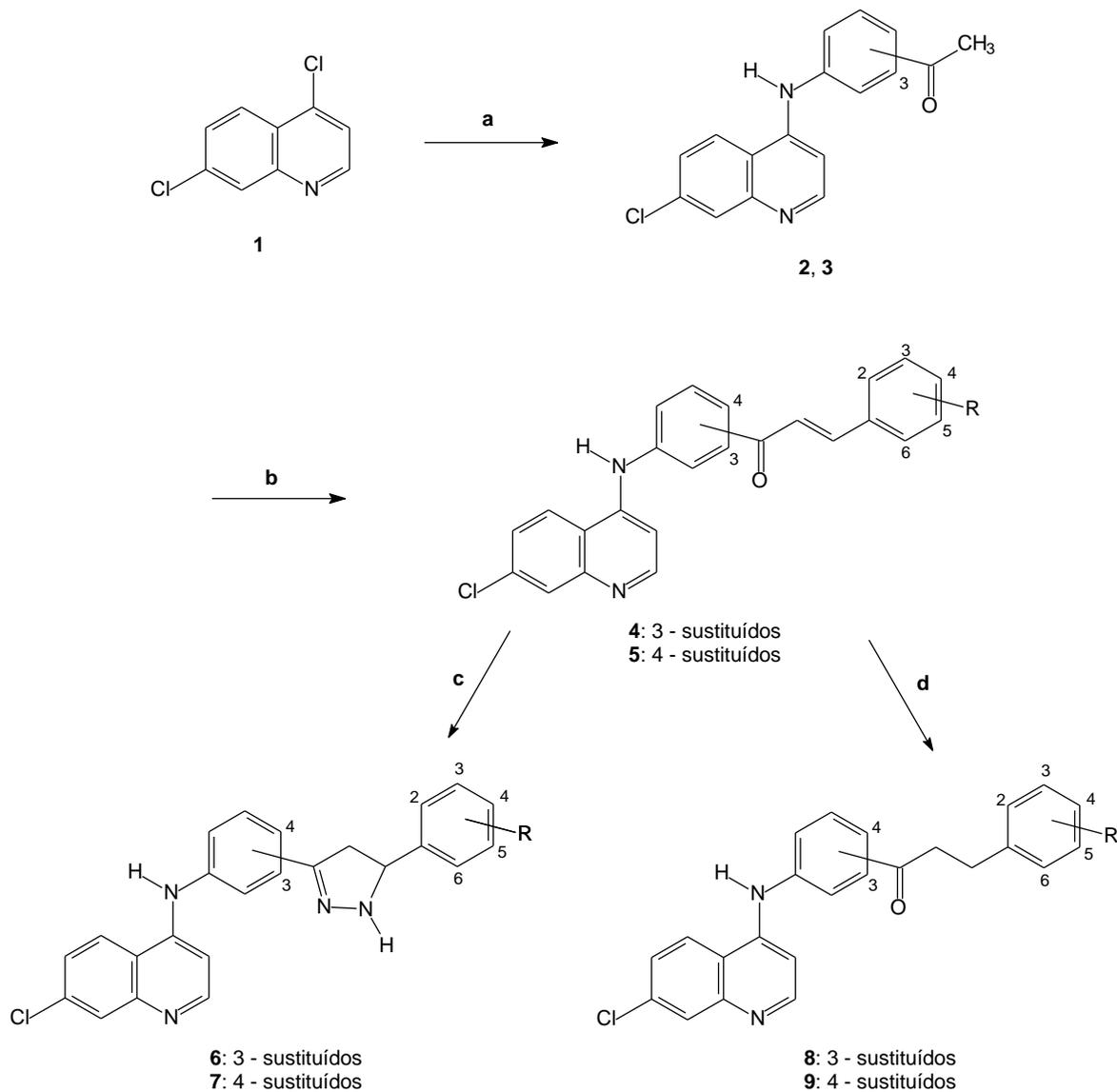
4.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar derivados de la 7-cloroquinolina sustituidos en la posición 4, de acuerdo a los esquemas planteados a partir de la 4, 7-dicloroquinolina, disponible comercialmente y su posterior condensación con compuestos tipo benzaldehídos, con miras a obtener derivados que presenten una doble acción contra la Malaria y el Cáncer

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar los compuestos de estructura general **4, 5, 6, 7, 8, 9 y 11**, purificarlos y caracterizarlos mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas (Esquemas 14 y 15).
2. Evaluar la posible actividad antimalárica *in vitro* e *in vivo* de los compuestos seleccionados, mediante los ensayos de inhibición de la formación de β -hematina y el Test supresivo de los cuatro días o prueba de Peters, respectivamente.
3. Determinar el efecto sobre el proceso de viabilidad y proliferación celular, de los compuestos seleccionados, a través de la reducción colorimétrica del MTT, en las líneas celulares neoplásicas Jurkat E6.1, HL60, A549 y MCF-7.
4. Determinar el efecto sobre el proceso de apoptosis, de los compuestos seleccionados, a través de la expresión superficial de la fosfatidilserina, en las líneas celulares neoplásicas Jurkat E6.1, HL60, A549 y MCF-7.

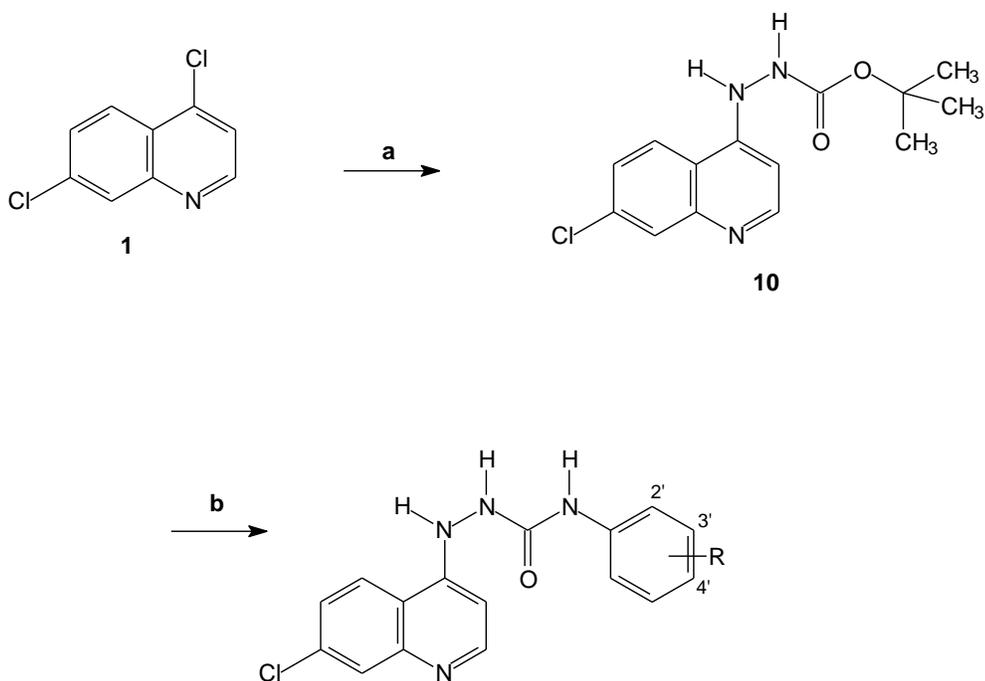
Esquema 14. Estrategia propuesta para la síntesis de los derivados 7-Cloroquinolina-4-sustituídos **4**, **5**, **6**, **7** y **8**.



Condiciones: a: 3 o 4-Aminoacetofenona, EtOH, Δ , 4 h. b: Benzaldehídos sustituidos, KOH, MeOH, t.a, 72-120 h. c: $\text{NH}_2\text{-NH}_2/\text{H}_2\text{O}$, EtOH, Δ , 18-24 h. d: H_2 Pd/C 10 %, 1 atm, EtOH, 12-18 h.

Sustituyentes R: 4- CH_3 , 2, 3-di- OCH_3 , 2, 4-di- OCH_3 , 2, 5-di- OCH_3 , 3, 4-di- OCH_3 , 3, 5-di- OCH_3 , 2, 4, 5-tri- OCH_3 , 3, 4, 5-tri- OCH_3 , 2, 4, 6-tri- OCH_3 , 2, 4, 5-tri- CH_3 , 1, 3-dioxol, 4-Cl y 4-F.

Esquema 15. Estrategia propuesta para la síntesis de los derivados 7-Cloroquinolina-4-sustituídos **11**.



Condiciones: **a:** Carbazato de *t*-butilo, EtOH, Δ . **b:** Anilinas sustituidas, EtOH, t.a ó Δ .

Sustituyentes R: 3'-Cl, 3'-F, 4'-Cl, 4'-F, 4'-Me, 4'-OMe

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. SECCIÓN QUÍMICA

La estrategia diseñada para la síntesis total de los derivados planteados **4**, **5**, **6**, **7**, **8** y **9**, se fundamentó en un procedimiento de tipo lineal en cuatro pasos que permitió la preparación de 41 compuestos derivados de la 4-aminoquinolina análogos de la CQ, la Amodiaquina y la Tebuquina. Los intermediarios clave para la obtención de los compuestos finales el 1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona (**2**) y el 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil) etanona (**3**) fueron diseñados previamente por nuestro grupo de investigación incorporando en su estructura el grupo acetilfenil que luego puede ser fácilmente funcionalizado para obtener los compuestos con el fragmento estructural chalcona requerido. Recientemente fue reportada la síntesis, actividad antimalárica *in vitro*, metabolismo y estudios del mecanismo de acción de derivados híbridos enonas y chalcone cloroquinolina¹³⁴.

Los derivados (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4** y **5**) se diseñaron aplicando la metodología farmacomodulativa de hibridación molecular, sobre la base de que el núcleo resultante de la unión de quinolina y el fragmento chalcona, tenía muchas posibilidades de originar compuestos altamente eficaces como antimaláricos y antineoplásicos. Aunque teóricamente es posible la formación de los isómeros *E* y *Z*, sólo se obtuvieron los isómeros de configuración *E*, lo cual fue confirmado mediante la constante de acoplamiento obtenida para el acoplamiento protón-protón del doble enlace carbono-carbono en el espectro de RMN H^1 de 15 Hz.

Los derivados 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** y **7**) se diseñaron tomando en consideración, entre otros aspectos, los

numerosos reportes que existen sobre la actividad antimicrobiana que presentan compuestos con el núcleo 4,5-dihidropirazol (Δ^2 -pirazolina) solos o acoplados con otros fragmentos estructurales como es el caso de la síntesis de una serie de chalconas y pirazolininas sustituidas con grupos cloro, hidroxilo y metilo, que fueron ensayadas contra una variedad de bacterias como lo son *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsella pneumoniae*, entre otras, las cuales mostraron un actividad considerable¹³⁵. Muy recientemente se reportó la síntesis de una serie de pirzolininas fluoradas con un alto rendimiento, a partir de las chalconas correspondientes por un novedoso método utilizando radiación ultrasónica y se evaluó su posible actividad contra, bacteria, hongos y el *Mycobacterium tuberculosis*¹³⁶.

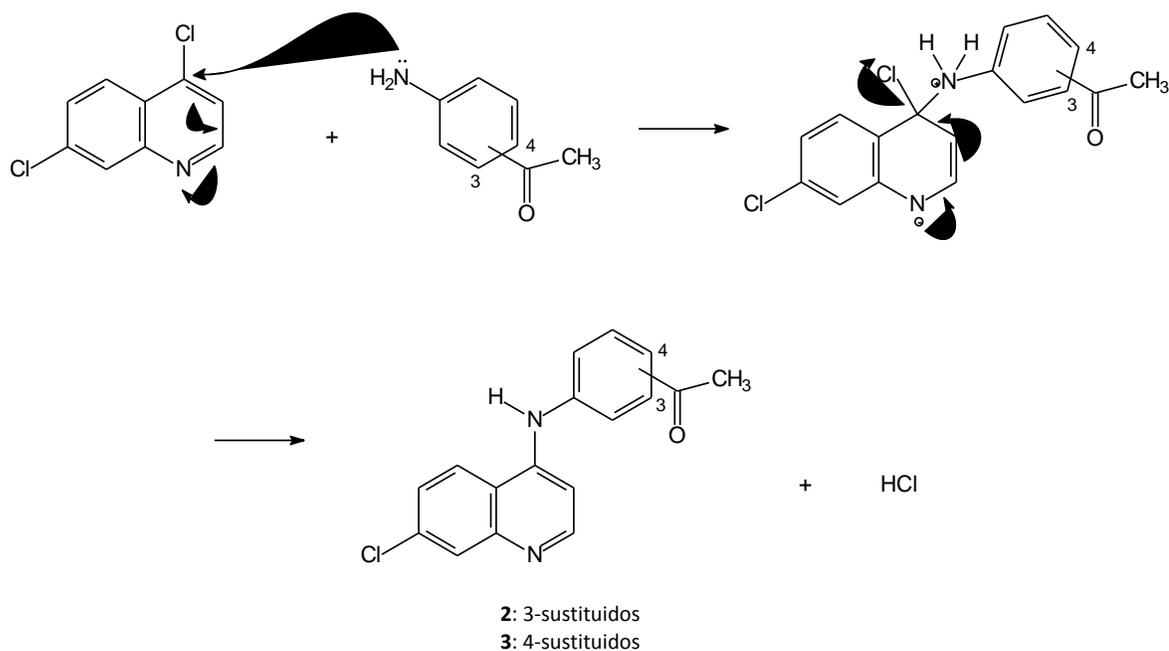
Los derivados 1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)propano-1-ona (**8** y **9**) se diseñaron con la finalidad de observar si variaba la actividad biológica de los derivados **4** y **5**, cuando se aumentaba la flexibilidad estructural al eliminar el enlace vinílico del núcleo chalcona, de igual modo se podrá evidenciar si el núcleo chalcona es importante para la actividad biológica de este tipo de compuestos.

Otro aspecto importante a considerar en el diseño de estos derivados es la incorporación de uno o varios grupos metoxi como sustituyentes en la mayoría de los derivados planteados, la incorporación de los grupos metoxi se realizó sobre la base de que este grupo funcional proporciona un entorno electrónico favorable. El grupo metoxi se encuentra presente en una gran cantidad de fármacos con actividades biológicas diversas como antibacterianos, antimicóticos, antimaláricos y antineoplásicos, entre otras, reportes recientes indican que se han sintetizado varios tipos de compuestos metoxilados y evaluado su posible actividad biológica, entre los que se encuentran: derivados metoxiazachalconas con actividad antimicrobiana^{137, 138}, derivados 7,4'-dihidroxi-3-metoxi flavonas con actividad antibacteriana¹³⁹, derivados 1-metoxi-(α -D-ribofuranosil) y 1-metoxi-(β -D-ribofuranosil) con actividad antiproliferativa¹⁴⁰ y 7-benciloxi y 7-metoxi flavonas con posible actividad antibacteriana y antifúngica¹⁴¹.

5.1.1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS INTERMEDIARIOS 1-(3 o 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona (**2** y **3**).

Los intermediarios clave para la síntesis de los mencionados derivados el 1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona y el 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona **2** y **3**, respectivamente, se obtuvieron a través de una reacción de Sustitución Nucleofílica Aromática (S_NAr) entre la 4,7-dicloroquinolina (**1**) comercialmente disponible y la 3 y/o la 4-aminoacetofenona, respectivamente en un reflujo en etanol (Esquema 16).

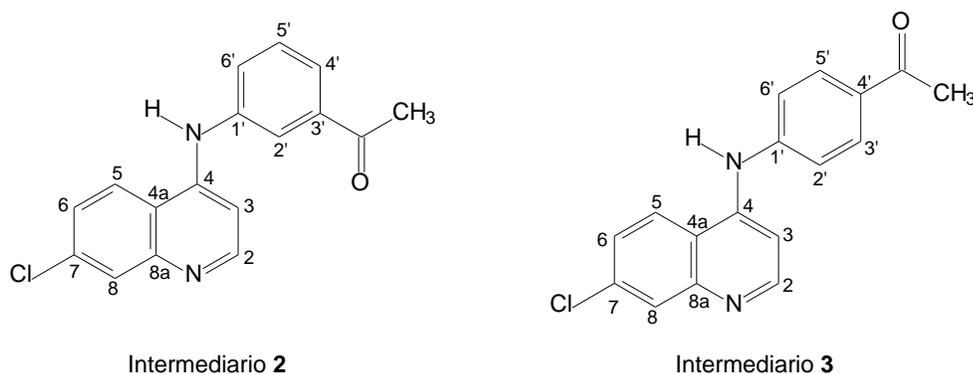
Esquema 16. Mecanismo propuesto para la formación de los intermediarios **2** y **3**.



En la S_NAr un nucleófilo fuerte reemplaza al grupo saliente, como lo es el cloro, y la velocidad con que sucede la reacción es proporcional a la concentración del nucleófilo, por consiguiente el debería estar implicado en el estado de transición. Se han propuesto tres posibles mecanismos para que se lleven a cabo las reacciones de S_NAr , entre los que se encuentran el de adición-eliminación, que se ve favorecido si el anillo aromático presenta grupos fuertemente atractores de electrones en posición *orto* o *para* y donde está implicado un intermediario interesante denominado ión bencino.

Las estructuras de los intermediarios **2** y **3** fueron establecidas de manera inequívoca mediante el análisis de los espectros de Infrarrojo (IR), Resonancia Magnética nuclear de protones (RMN 1H) en una y dos dimensiones y Resonancia magnética nuclear de carbonos (RMN ^{13}C) (Figura 45).

Figura 45. Estructuras y numeración de los intermediarios **2** y **3**.



El intermediario **2** se obtuvo como un polvo de color amarillo claro con un punto de fusión de 223-224 °C con un rendimiento de 96 %. En el análisis del espectro IR se destacan dos bandas intensas en 3340 y 1683 cm^{-1} correspondientes al grupo amino y a al alargamiento C=O del carbonilo de la cetona.

El espectro de RMN ^1H muestra las señales características del intermediario **2**, comenzando por la situada a campo más alto tenemos: Un singlete en 2.62 ppm, que integra para tres protones, correspondiente al grupo metilo de la cetona en la posición 3. Un doblete en 6.86 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón de la posición 3 de la quinolina que se acopla con el protón 2 con una constante de acoplamiento (J) de 6.93 Hz. Un multiplete de 7.69 a 7.79 ppm, que integra para dos protones, atribuidos a los protones 5' y 6' se acoplan con el protón 4'. Un doblete de doblete en 7.88 ppm, que integra para un protón, atribuida al protón 6 que se acopla con el protón 5 y con el protón 8 con unas J de 9.90 Hz y 1.97 Hz respectivamente. Un multiplete de 7.98 a 8.03 ppm, que integra para dos protones, atribuido a los protones 2' y 4'. Un doblete en 8.19, que integra para un protón, correspondiente al protón 8, que se acopla con el protón 6 con una J de 1,97 Hz. Un doblete d en 8.55 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón 2, que se acopla con el protón 3 con una J de 6,93 Hz. Un doblete en 8.90 ppm, que integra para un protón, correspondiente al protón 5, que se acopla con el protón 6 con una J de 9,15 Hz.

A campo más bajo: Un singlete ancho en 11.32 ppm, que integra para un protón, correspondiente al protón del grupo amino.

En el espectro RMN ^{13}C se observan las señales correspondientes a los veinte y siete carbonos que tiene el compuesto, comenzando por el campo más alto se encuentran: Un singlete a 27.4 ppm correspondiente al carbono del metilo de la cetona, otro singlete a 101,6 ppm correspondiente al carbono 3, un singlete a 117.5 ppm correspondiente al carbono 2', un singlete a 122.8 ppm correspondiente al carbono en posición 8, un singlete a 124.0 ppm, un singlete a 126.5 correspondiente al carbono 6, una en 127.2 correspondiente el carbono 8, un singlete a 130.7 ppm correspondiente al carbono en 6', un singlete a 152.7 ppm asignado al carbono 2 y un singlete a 198.0 ppm asignado al carbono carbonilo. Todos estos desplazamientos fueron corroborados de

manera inequívoca a través de los experimentos de dos dimensiones de Correlación Espectroscópica (COSY) y Correlación Heteronuclear (HETCOR).

El intermediario **3** se obtuvo como un polvo amarillo con un punto de fusión de 209-211 °C y un rendimiento de 94 %. En el análisis del espectro IR se destacan, al igual que en el intermediario **2**, las bandas características de los grupos amino y carbonilo a 3440 y 1676 cm^{-1} , respectivamente.

En el espectro de RMN ^1H de este intermediario se observan las señales más claras o definidas debido a su simetría, entre las señales comenzando por la situada a campo más alto tenemos: Un singlete en 2.62 ppm, que integra para tres protones, correspondiente al grupo metilo de la cetona en la posición 3. Un doblete en 7.04 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón de la posición 3 de la quinolina que se acopla con el protón 2 con una J de 6.93 Hz. Un doblete en 7.65 ppm, que integra para dos protones equivalentes, característica de los protones 2' y 6' se acoplan con los protones 3' y 5' con una J de 8,39 Hz. Un doblete en 7.88 ppm, que integra para un protón correspondiente al protón 6 con el protón 5 con una J de 9,15 Hz. Un doblete 8.12 ppm, que integra para dos protones, característica los protones 3' y 5' se acoplan con los protones 2' y 6' con una J de 8,39 Hz. Un singlete en 8.21 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón 8, en el cual se observa un desplazamiento a campo más bajo con referencia al intermediario **2**. Un doblete en 8.60 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón 2, que se acopla con el protón 3 con una J de 6,93 Hz. Un doblete en 8.95 ppm, que integra para un protón, correspondiente al protón 5, que se acopla con el protón 6 con una J de 9,15 Hz.

A campo más bajo: Un singlete ancho en 11.37 ppm, que integra para un protón, correspondiente al protón del grupo amino.

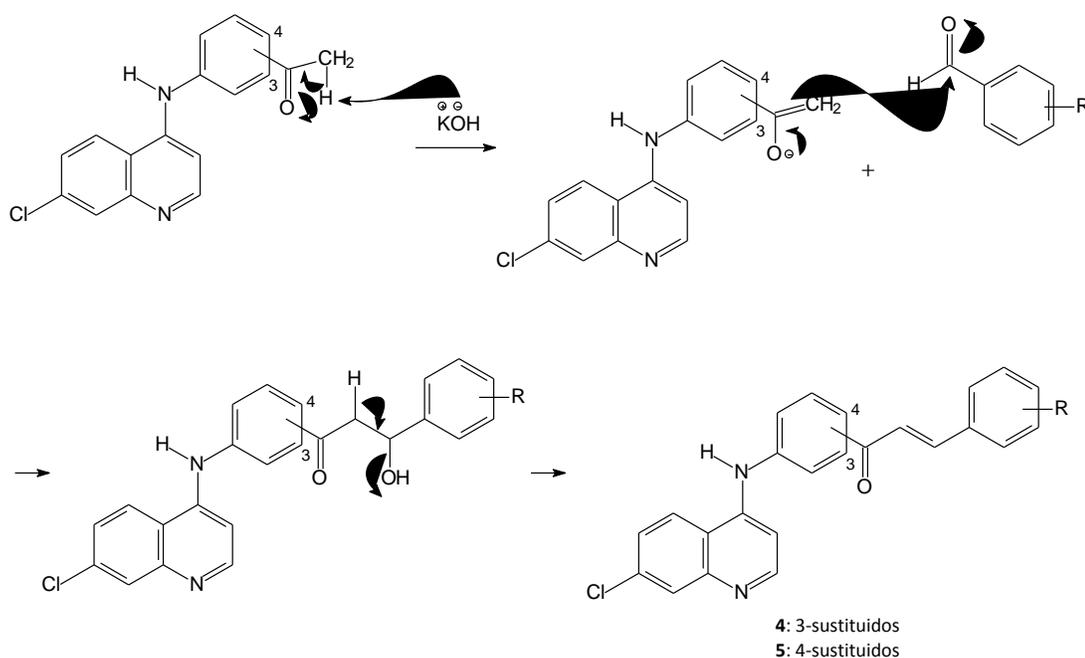
En el análisis del espectro RMN ^{13}C se evidencian las señales correspondientes a los veinte y siete carbonos que tiene el intermediario **3** al igual que el intermediario **2**, entre las cuales se pudieron establecer de una manera inequívoca mediante el espectro HETCOR comenzando por el campo más alto: Un singlete a 27.3 ppm correspondiente al carbono del metilo de la cetona, un singlete a 101,8 ppm correspondiente al carbono 3, un singlete a 120.0 ppm correspondiente a los carbonos equivalentes 2' y 6', un singlete a 127.0 ppm correspondiente al carbono 5, un singlete a 128.1 ppm correspondiente al carbono 6, un singlete a 130.5 ppm correspondiente a los carbonos 3' y 5', un singlete a 144.4 ppm correspondiente al carbono 2 y un singlete a 197.4 ppm asignado al carbono carbonilo.

5.1.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS DERIVADOS (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4, 5**)

Los derivados (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4 y 5**), se sintetizaron mediante la reacción de condensación aldólica de Claisen-Schmidt entre los intermediarios clave 1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona (**2 y 3**) (cetonas) y diferentes benzaldehídos sustituidos, en presencia de una base fuerte para formar el enolato (Esquema 17).

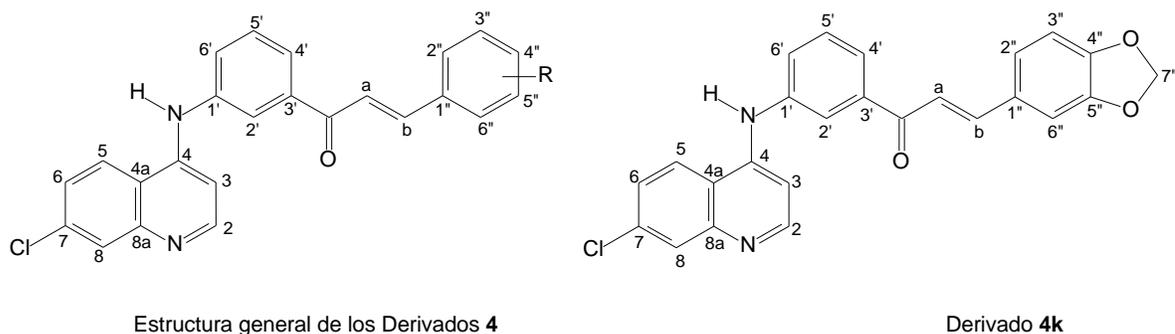
En la reacción de Claisen-Schmidt el aldehído aromático reacciona con una cetona para dar lugar a cetonas α,β -insaturadas, como el aldehído aromático no tiene hidrógenos en posición α , no puede funcionar como el componente nucleofílico, al ser incapaz de enolizarse y por ello tampoco puede autocondensarse, pero reacciona fácilmente con la cetona presente. La deshidratación final es usualmente, favorable ya que la enona resultante está conjugada con el anillo aromático.

Esquema 17. Mecanismo propuesto para la condensación Claisen-Schmidt.



Las estructuras generales de los derivados **4** fueron establecidas de manera inequívoca mediante el análisis de los espectros de IR, RMN ^1H en una y dos dimensiones y RMN ^{13}C , así como algunos análisis elementales (Figura 46).

Figura 46. Estructura general y numeración de los derivados **4**.



En el análisis de los espectros de IR de los derivados **4** y **5**, en general, se observan las señales características del estiramiento del enlace amina secundaria como un singlete entre 3500 y 3100 cm^{-1} , y un singlete del grupo carbonilo correspondiente al estiramiento de la cetona α,β -insaturada entre 1680 y 1645 cm^{-1} , y otras señales sin importancia práctica.

Los derivados **4** al tener un patrón de sustitución 1,3 en el anillo fenilamino, presentan espectros de RMN ^1H más complejos con multipletes en la región aromática que integran para varios protones. En el caso del derivado **4a**, que es el derivado que tiene un grupo metilo como sustituyente, presenta 15 protones en la región aromática y se evidencian las siguientes señales, comenzando por la situada a campo más alto se encuentran: Un singlete en 2.31 ppm, que integra para tres protones, correspondiente al grupo metilo. Un doblete en 6.98 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón de la posición 3 de la quinolina que se acopla con el protón 2 con una J de 5.21 Hz. Un multiplete de 7.55 a 7.93 ppm, que integra para nueve protones, atribuidos a los protones 6, 2', 4', 5', 6', a, b, 2'', 6''. Un singlete en 8.03, que integra para un protón, correspondiente al protón 8. Un doblete en 8.41 ppm, que integra para un protón, atribuido al protón 5, que se acopla con el protón 6 con una J de 9,15 Hz. Un doblete en 8.48 ppm, que integra para un protón, correspondiente al hidrógeno 2, que se acopla con el protón 3 con una J de 5,21 Hz. Un singlete ancho en 9.26 ppm, que integra para un protón, correspondiente al grupo amino. Esta señal aparece en todos estos derivados entre 9.26 y 9.30 ppm.

Mediante el análisis de los espectros bidimensionales de RMN ^1H (COSY) de estos derivados **4**, se ha establecido los desplazamientos de los protones 2, 3, 5, 6 y 8 de la siguiente manera: El protón 3 generalmente aparece en forma de doblete que se acopla con el protón 2 con una J de 5,21 Hz o en algunos casos puede aparecer inmerso en un multiplete, entre 6.98 y 7.05 ppm. El protón 6 que generalmente aparece en un multiplete

entre 7.50 y 7.80 Hz o en un doblete alrededor de 7.65 ppm que se acopla con el protón 5 con una J de 9,15 Hz. El protón 8 que puede aparecer en forma de singlete o de doblete alrededor de 8.01 ppm. El protón 5 que aparece como un doblete en alrededor de 8.40 ppm que se acopla con el protón 6 con una J de 9,15 Hz. El protón en 2 que aparece como un doblete alrededor de 8.50 ppm que se acopla con el protón 3 con una J de 5,21 Hz.

En estos compuestos se estableció mediante el análisis de los espectros en dos dimensiones y el valor de las constantes de acoplamiento, que el protón de la quinolina que se encuentra desplazado a campo más bajo es 2, a diferencia de los compuestos intermediarios **2** y **3** que el que aparece a campo más bajo es el 5.

Para los derivados dimetoxilados **4b**, **4c**, **4d**, **4e** y **4f** se observan a campo alto las señales características de los protones del grupo metoxi que aparecen como singletes que integran para tres protones entre 3.70 y 3.90 ppm. También se evidencian los desplazamientos correspondientes de los restantes protones que se encuentran en la región aromática de la siguiente manera: Los protones del fenilo sustituido, dependiendo de su patrón de sustitución aparecen, como multipletes entre 6.65 y 7.98 ppm. Los protones 3'', 4'' y 5'' generalmente entre 6.65 y 7.59 ppm. El protón 6'' puede desplazarse hacia campo más bajo aproximadamente en 7.40 ppm.

Los protones del doble enlace, denominados a y b, dependiendo de la complejidad de la señal, aparecen inmersos en multipletes o como un doblete identificado de una manera inequívoca mediante su constante de acoplamiento (J) de 15,57 Hz. El protón b es el que se desplaza a campo más alto de los dos, encontrándose entre 7.55 y 7.70 ppm, mientras que el protón a entre 7.70 y 8.06 ppm.

Las señales correspondientes a los protones 5' y 6' aparecen como multipletes entre 7.55 y 7.70 ppm, un campo más alto en comparación con el desplazamiento de los

protones 2' y 4' que aparecen a campo más bajo, entre 7.84 y 7.98 ppm, debido al desapantallamiento originado por el grupo carbonilo.

En el caso de los derivados trimetoxilados como el **4g**, **4h** y **4i**, además de aparecer el otro singlete característico de los 3 protones del grupo metoxi en alrededor de 3.70 y 3.80 ppm, se va a evidenciar una región aromática un poco menos congestionada debido a la desaparición del desplazamiento de uno de los protones del grupo fenilo sustituido y al presentarse en los derivados **4h** y **4i**, protones equivalentes, entre las señales presentes en esta zona se encuentran: El desplazamiento del protón 3'' se observa como un singlete a campo más alto que el protón 3, en 6.74 ppm como es el caso del derivado **4g**, o como un doblete en 6.33 ppm, que integra para los dos protones equivalentes 3'' y 5'' en el derivado **4i**. Los protones 2'' y 6'' varían ligeramente su desplazamiento cuando son equivalentes apareciendo en 7.23 ppm, en comparación con los otros derivados dimetoxilados donde la señal del protón 2'' se observa a campo más bajo entre 7.02 y 7.03 ppm y la del protón 6'' a campo más alto entre 7.40 y 7.90 ppm, a excepción del derivado **4f**, que también presenta estos dos protones equivalentes y la señal del protón 6'' aparece a un campo relativamente muy alto a 7.03 ppm.

Para el derivado **4j** la única diferencia significativa que se observa con los otros espectros de los otros derivados **4**, es la aparición de tres singletes que integran para tres protones a 2.21, 2.23 y 2.37 ppm, correspondientes a los tres metilos. En el caso del derivado **4k**, que no presenta un grupo fenil sustituido sino un anillo benzo[d][1,3]dioxolil, se observan la aparición de un singlete a 6.09 ppm que integra para dos protones correspondiente al grupo metileno 7'', todos los demás desplazamientos son similares a los descritos para estos compuestos. En los referentes a los derivados monohalogenados **4l** y **4m**, se observa la desaparición de las señales a campo alto y solo se evidencian las características de los 15 protones que aparecen en la región aromática, el derivado **4l** presenta un patrón de desplazamientos similar al de los otros derivados **4**. En lo referente

al derivado **4m**, se observa el acoplamiento característico de los protones 3'' y 5'' con Flúor y el desdoblamiento de la señal que aparece como un triplete, que integra para 2 protones, en 7.30 ppm que presenta un acoplamiento *orto* con los protones 2'' y 6'', con una constante *J* de 8,64 Hz y un acoplamiento *orto* con el Flúor con una constante *J* de 8,90 Hz.

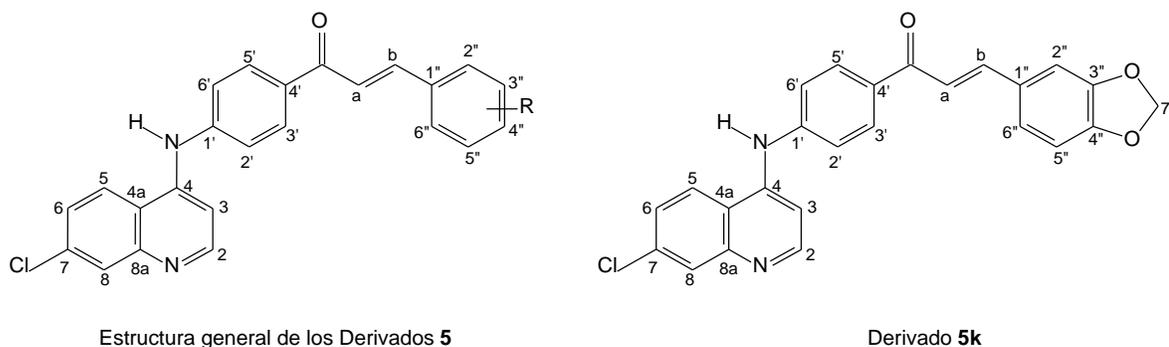
En los espectros de RMN ¹³C de los derivados **4**, se observan las señales características de los 24 carbonos de la estructura general 7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-en-1-ona, y adicionalmente para cada derivado en particular se observan las señales correspondientes a los carbonos presentes en el o los sustituyentes metilo, dimetoxi, trimetoxi o trimetil y para los derivados monohalogenados **4l** y **4m**, sólo se observan las 24 señales de la mencionada estructura general.

En el caso del derivado **4a**, se observa la señal característica del carbono metílico a 21.7 ppm y para los derivados dimetoxilados **4b**, **4c**, **4d**, **4e** y **4f** y tri metoxilados **4g**, **4h** y **4i** se observa los desplazamientos de los carbonos de este grupo a campos ligeramente más bajos debido al desapantallamiento originado por el átomo de oxígeno alrededor de 56.0 ppm. Entre los carbonos que se han podido establecer de una manera inequívoca mediante el análisis de los espectros de RMN de dos dimensiones, para todos los derivados **4** se encuentran: El C3 que se desplaza entre 102.2 y 102.8 ppm. El C8 que se desplaza entre 121.7 y 122.5 ppm. El C5 que se desplaza entre 125.0 y 125.2 ppm. El C6 que se desplaza entre 126.0 y 125.7 ppm. El Cb que se desplaza entre 130.0 y 131.0 ppm. El Ca que se desplaza entre 139.0 y 140.5 ppm. El C2 que se desplaza entre 152.4 y 152.6 ppm. El C=O que se desplaza entre 189.3 y 190.5 ppm.

En el análisis realizado en los en los espectros de RMN ¹H de los derivados **5** se observa que las señales de los protones son menos complejas debido al patrón de

sustitución 1,4 que presentan estos compuestos en el anillo fenilamino. La estructura general y numeración de los derivados **5** se muestra en la Figura 47.

Figura 47. Estructura general y numeración de los derivados **5**.



Los desplazamientos de los protones equivalentes del grupo fenilamino aparecen como dobletes, el correspondiente a los protones 2' y 6' a campo alto alrededor de 7.49 ppm y el de los protones 3' y 5' a campo más bajo alrededor de 8,23 ppm.

En el caso del derivado *p*-tolil **5a**, que está monosustituido en el anillo fenilo, se van a tener cuatro pares de protones equivalentes, se va a encontrar los desplazamientos de estos protones, comenzando por la situada a campo más alto, de la siguiente manera: Un doblete en 7.27 ppm, que integra para dos protones, asignado a los protones 3'' y 5'' que se acoplan con los dos protones 2'' y 6'' con una constante *J* de 8,15 Hz. Un doblete en 7.49 ppm, que integra para dos protones, correspondiente a los protones 2' y 6' que se acoplan con los protones 3' y 5' con una constante *J* de 8,67 Hz. Un doblete de 7.78 ppm que integra para dos protones, asignados a los hidrógenos 2'' y 6'' que se acoplan con los dos protones 3'' y 5'' con una constante *J* de 8,15 Hz. Un doblete en 8.20 ppm, que integra para dos hidrógenos, correspondiente a los protones 3' y 5' que se acoplan con los

protones 2' y 6' con una constante *J* de 8,67 Hz.

En estos derivados de la serie **5**, se observan que las señales correspondientes a los protones del anillo fenilo, según sea su sustitución, inmersas en multipletes, generalmente desplazándose los protones 2'', 3'', 4'' y 5'', a campo más alto que el protón 3 de la quinolina, entre 6.61 y 7.27 ppm, a diferencia del protón 6'', que cuando está presente, aparece a campo más bajo campo generalmente entre 7.38 y 8.00 ppm.

En el análisis de los espectros de RMN ¹³C de los derivados **5**, de igual manera que los derivados **4**, se observan las señales características de los 24 carbonos de la estructura general 7-(cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-en-1-ona, y las señales correspondientes a los carbonos presentes en el o los sustituyentes. Entre los carbonos que se han podido establecer de una manera inequívoca mediante el análisis de los espectros de RMN de dos dimensiones, se encuentran: El C3 que se desplaza alrededor de 105 ppm, un poco a campo más bajo que en los derivados **4**. Los C2' y C6' (equivalentes) que se desplazan alrededor de 119 ppm. El C8 a alrededor de 123 ppm. El C6 entre de 125.4 y 125.8 ppm. El Ca a alrededor de 128 ppm. El C2 a alrededor de 152 ppm. El C =O de 189.3 a 190.5 ppm.

5.1.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS DERIVADOS 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** Y **7**)

La síntesis de los derivados 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6**) y 7-cloro-*N*-(4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**7**) se realizó mediante una reacción de ciclo-condensación de los derivados (*E*)-1-(3 o 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona

(4 y 5) con hidrazina monohidratada en reflujo con etanol absoluto, utilizando ácido acético glacial en cantidades catalíticas¹⁴²⁻¹⁴⁴.

Factores tales como la polarización, naturaleza de los sustituyentes en la porción α,β -insaturada influyen profundamente la velocidad de reacción. La conversión completa de la chalcona con sustituyentes halógenos toma 10 a 12 horas, con grupo metilo de 16 a 20 horas, mientras que con los grupos metoxi 24 horas. El mecanismo detallado de reacción involucra la formación inicial de una arilhidrazona con un subsecuente ataque nucleofílico del nitrógeno en el doble enlace carbono-carbono de la posición β . La velocidad de reacción está determinada por el ataque nucleofílico al carbono β y es directamente proporcional a la naturaleza electropositiva del mismo. Dicha naturaleza electropositiva del carbono β está controlada por el efecto inductivo del sustituyente en el anillo aromático, los sustituyentes halógenos en el anillo aromático, incrementa la deficiencia parcial de electrones del carbono β , dirigiendo hacia una rápida completación de la reacción, mientras que los grupos alquilo donadores de electrones como el metoxi contribuyen a una reacción lenta (Esquema 18).

La estructura general y numeración de los derivados **6** y **7** se muestra en la Figura 48. En estos derivados al haberse modificado estructuralmente la cetona α,β -insaturada formando el anillo de la Δ^2 -pirazolina se observa la desaparición de los dos protones del doble enlace en la zona aromática, en alrededor de 7.70 ppm y 7.90 ppm, lo cual simplifica esta región. La estructura general y numeración se muestra en la figura 48. En el análisis de los espectros de RMN ^1H , de estos derivados se observa los desplazamientos característicos de los dos protones del grupo metileno y del grupo metino, de la siguiente manera: Un protón a que aparece con como un doblete de dobletes a alrededor de 2,70 ppm, que se acopla con el otro protón a con una constante J de 16,18 Hz y con el protón b con una constante J de 10,88 Hz.

Esquema 18. Mecanismo propuesto para la ciclocondensación con hidrazina.

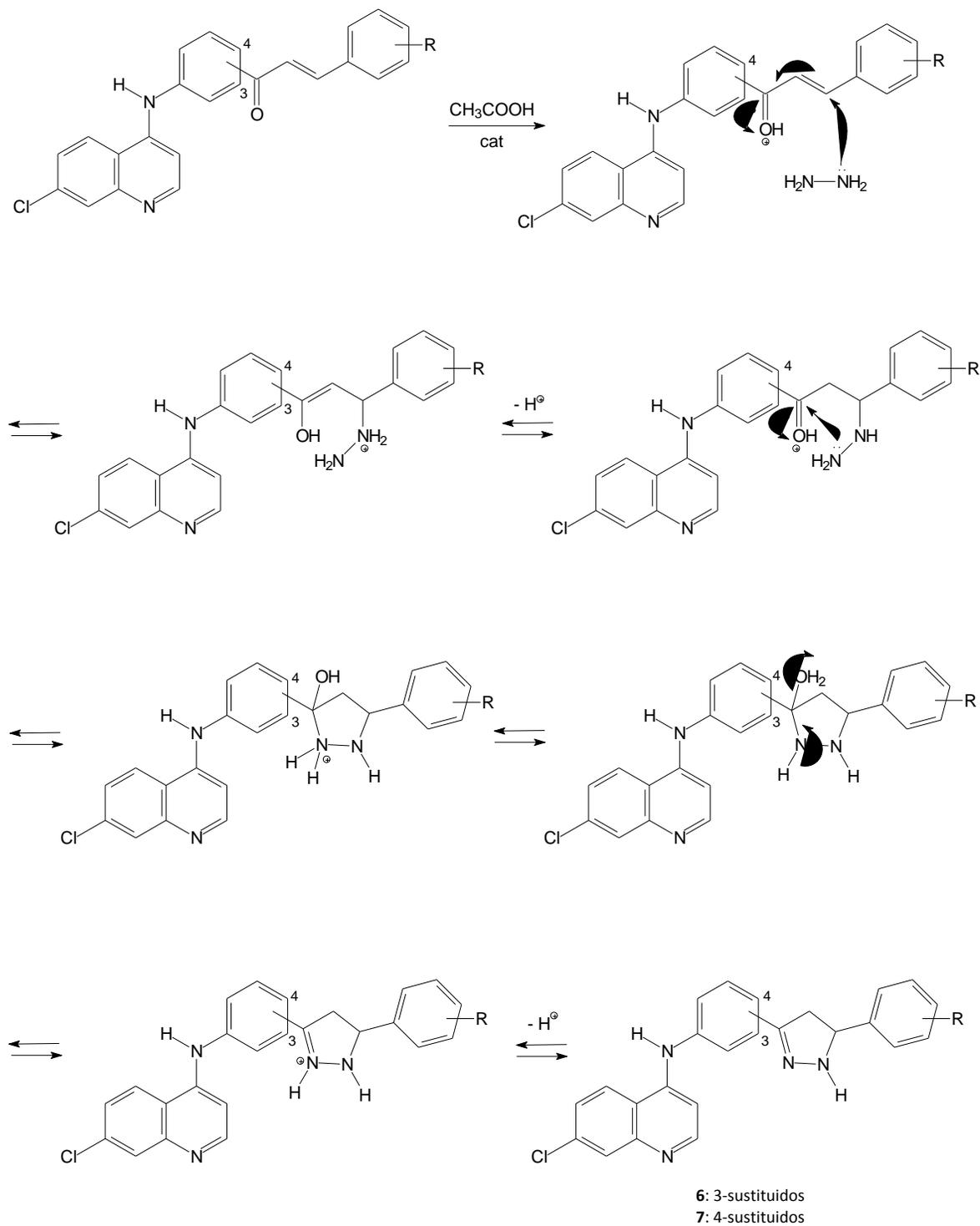
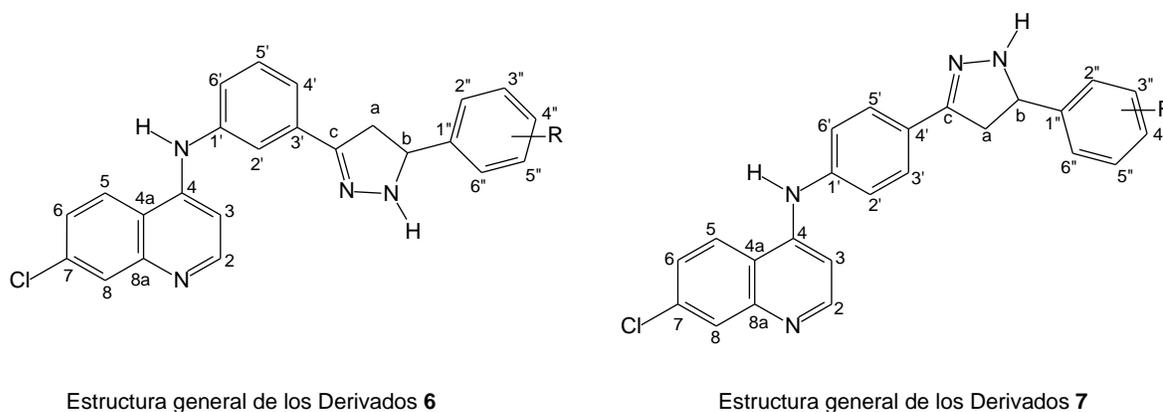


Figura 48. Estructura general y numeración de los derivados **6** y **7**.

El otro protón a, aparece a alrededor de 3,35 ppm, a veces se encuentra dentro de un multiplete debido a que esta es la zona en que se desplazan los protones del agua del solvente. En el caso específico de los derivados **6j** y **7j**, debido a la presencia de tres grupos metilos, este protón a se desplaza a campo ligeramente más bajo, 3.47 ppm, y se puede observar su señal como un doblete de dobletes con las constantes J de 16,18 Hz de su acoplamiento con el otro protón a y la constante J de 10,88 Hz de su acoplamiento con el protón b. El protón b que aparece generalmente como un triplete centrado alrededor de 4,80 ppm, que se acopla con los protones a con una constante de acoplamiento J de 10,88 Hz.

Un aspecto importante es que en algunos de estos derivados aparece la señal correspondiente al protón sobre el nitrógeno 1 de la Δ^2 -pirazolina, como un singlete ancho, generalmente entre 6.32 y 7.63 ppm.

También se puede observar que los protones de la quinolina, aparecen con iguales desdoblamientos y con los mismos desplazamientos de la siguiente manera: El protón 3 en forma de doblete que se acopla con el protón 2 con una J de 5,21 Hz o en algunos casos

puede aparecer inmerso en un multiplete, entre 6.94 y 7.05 ppm. El protón 6 aparece en un doblete de doblete alrededor de 7.50 ppm, que se acopla con el protón 5 con una constante J de 9,15 Hz y con el protón 8 con una constante J de 1,97 Hz. El protón 8 ahora aparece en forma de doblete, a un campo ligeramente más alto, alrededor de 7.89 ppm, que se acopla con el protón 6 con una constante J de 1,97 Hz. El protón 5 que aparece como un doblete en alrededor de 8.40 ppm que se acopla con el protón 6 con una J de 9,15 Hz. El protón en 2 que aparece como un doblete alrededor de 8.50 ppm que se acopla con el protón 3 con una J de 5,21 Hz.

Las señales correspondientes a los protones del grupo fenilamino y del fenilo sustituido aparecen en campos y multiplicidades similares a las descritas para los derivados **4** y los derivados **5**: Los protones del fenilo sustituido, generalmente aparecen a campo mas alto en multipletes entre 6.39 a 6.94 ppm. En el caso del derivado **6**, los protones 4', 5' y 6' se desplazan a un campo ligeramente más bajo, en multipletes alrededor de 7.30 a 7.45 ppm. En el caso de los derivados **7**, los protones equivalentes 2' y 6' generalmente se desplazan a campo ligeramente más alto, como un doblete alrededor de 7.30 ppm, mientras que el otro par de protones equivalentes, 3' y 5', aparecen a alrededor de 7.65 ppm. Hay derivados que presentan multipletes con estos dos tipos de protones. El protón 2' es el que se desplaza a campo más bajo de todos, generalmente, como un singlete a alrededor de 7.62 a 7.66 ppm.

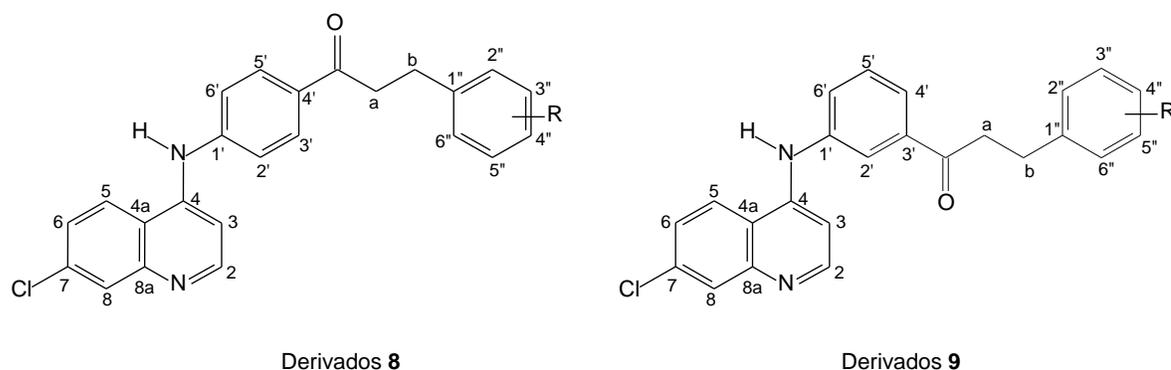
En lo referente al análisis de los espectros de RMN ^{13}C de los derivados **6** y **7**, se observan las señales características de todos los carbonos en cada compuesto. Las señales del carbono metilénico y del carbono metínico b, fueron establecidas inequívocamente mediante el espectro de mejora sin distorsión por transferencia de polarización (DEPT por sus siglas en inglés) (distortionless enhancement by polarization transfer). Entre los carbonos que se han podido establecer de una manera inequívoca mediante el análisis de los espectros de RMN de dos dimensiones, se encuentran: El Ca que se desplaza alrededor

de 40 ppm. El Cb que se desplaza alrededor de 64 ppm. El C3 que se desplaza alrededor de 102 ppm. El C5 que se desplaza entre 125.0 y 125.3 ppm. El C6 que se desplaza entre 125.4 y 125.8 ppm. El C8 que se desplaza a un campo ligeramente más bajo alrededor de 128 ppm. El C2 a alrededor de 152 ppm. Un aspecto que cabe destacar es que en estos derivados se observa la desaparición de la señal correspondiente al carbono carbonílico.

5.1.4. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS DERIVADOS 1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)propan-1-ona (**8** Y **9**)

Los derivados 1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)propan-1-ona (**8**) y los derivados 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)propan-1-ona (**9**), análogos reducidos en el doble enlace de los compuestos finales (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) y (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-il-amino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-en-1-ona (**5**), respectivamente, se prepararon a través de la hidrogenación catalítica de estos últimos, con paladio sobre carbón al 10 % utilizando etanol absoluto como solvente¹⁴⁵.

La hidrogenación catalítica es una reacción heterogénea que sucede en la superficie de partículas catalizadoras insolubles y ocurre con una estereoquímica *sin*, porque ambos hidrógenos se añaden en el doble enlace desde la misma cara. La primera etapa de la reacción es la adsorción del hidrógeno en la superficie del catalizador, seguidamente se forma un complejo entre el catalizador y el alqueno cuando un orbital vacío de en el metal interactúa con el orbital *pi* lleno del alqueno y finalmente se inserta el hidrógeno en el doble enlace y el producto saturado se difunde alejándose del catalizador. En la Figura 49 se muestra la estructura general y numeración de los derivados **8** Y **9**.

Figura 49. Estructura general y numeración de los derivados **8** y **9**.

En el análisis de los espectros de RMN ^1H , de estos derivados se puede evidenciar que si se llevó a cabo la reducción del doble enlace, como lo es desaparición de las dos señales correspondientes a los dos protones vinílicos en la zona aromática y la aparición de los desplazamientos característicos de los cuatro protones de los grupos metilenos originados por la reducción del doble enlace, comenzando por el campo más alto tenemos las siguientes señales: Un triplete centrado en alrededor de 2.80-2.96 ppm, que integra para dos protones, correspondiente a los protones b, que son los que se desplazan a campo más alto, y se acoplan con los protones a con una constante J de 6,93 Hz. Un triplete centrado en alrededor de 3.18 ppm, que integra para dos protones, correspondiente a los protones a, que se acoplan con los protones b con una constante J de 6,93 Hz.

Los desplazamientos y los desdoblamientos de los protones presentes en estos derivados, tanto como los de los grupos metoxi y metilos, presentes en los sustituyentes, como los de la quinolina, los del grupo fenilamino y los del fenilosustituido, son similares a los ya descritos para los derivados **4** y **5**.

En el análisis realizado en los espectros de RMN ^{13}C de los derivados **8** y **9**, se evidencian las señales de todos los carbonos presentes en cada compuesto, estos desplazamientos son similares a los ya establecidos de manera inequívoca, para los derivados anteriormente discutidos, mediante el espectro de RMN de dos dimensiones HETCOR. Cabe destacar la aparición de los desplazamientos característicos de los carbonos metilénicos resultantes de la reducción del doble enlace de los derivados **4** y **5** de la siguiente manera: El C β , que es el que se desplaza a campo más alto, alrededor de 26.1 y 29.8 ppm. El C α que se desplaza alrededor de 38.5 y 40.6 ppm.

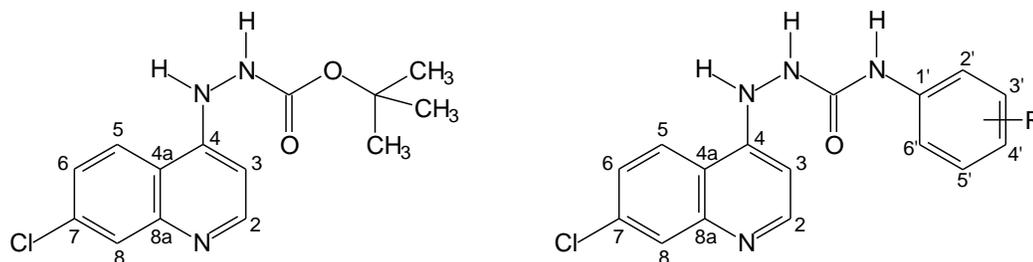
Otro aspecto que nos asegura de manera inequívoca que se efectuó la reducción del doble enlace de la cetona α,β -insaturada es el desplazamiento a campo más bajo de la señal del carbono carbonílico, que en los derivados **4** y **5**, aparece a alrededor de 187.0 ppm, debido a que se encuentra apantallado, mientras que en estos derivados **8** y **9**, su desplazamiento es a alrededor de 198.5 ppm.

5.1.5. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL INTERMEDIARIO 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino) carbamato de *t*-butilo (**10**) y DE DERIVADOS 1-(7-cloroquinolin-4-ilamino)-3-(fenil-sustituido)úrea (**11**)

El intermediario clave 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino) carbamato de *t*-butilo (**10**) se obtuvo a través de una reacción de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$, entre la 4,7-dicloroquinolina (**1**) comercialmente disponible y el carbazato de *t*-butilo, en un reflujo en etanol. Su estructura fue establecida de manera inequívoca mediante el análisis de los espectros de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C . La estructura y la numeración de éste intermediario se muestra en la Figura 50. En el análisis de RMN ^1H están presente los desplazamientos característicos de todos los protones de la estructura: A campo alto se observa un singlete que integra para nueve protones a 1.47

ppm, atribuido los protones de los tres grupo metilos. Los desplazamientos de los protones del anillo de la quinolina son similares a los descritos anteriormente.

Figura 50. Estructura y numeración del intermediario **10** y de los derivados **11**.



La ruta planteada para la síntesis los derivados 1-(7-cloroquinolin-4-ilamino)-3-(fenilsustituido)urea **11**, consistió en una reacción de sustitución nucleofílica acílica para la empleando las condiciones clásicas a temperatura ambiente y en reflujo por 24 y 48 horas, respectivamente que produjo una mezcla compleja de productos de reacción de difícil separación, no pudiendo obtenerse el producto deseado.

Esta metodología empleada no nos proporcionó los resultados esperados en la obtención de los derivados propuestos, motivo por el cual posteriormente se piensa en proceder a realizar una nueva ruta de síntesis que se puede tener como primer paso una reacción de hidrólisis ácida del éster, el cual seguidamente se podrá activar mediante el empleo de un agente tipo *N,N*-diciclohexilcarbodiimida en un solvente tipo dioxano o diclorometano, o se podrá transformar en el cloruro de ácido correspondiente con cloruro de tionilo en benceno seco, y como segundo paso se procederá a su posterior acoplamiento con las anilinas sustituidas.

5.2. SECCIÓN BIOLÓGICA

5.2.1. ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA

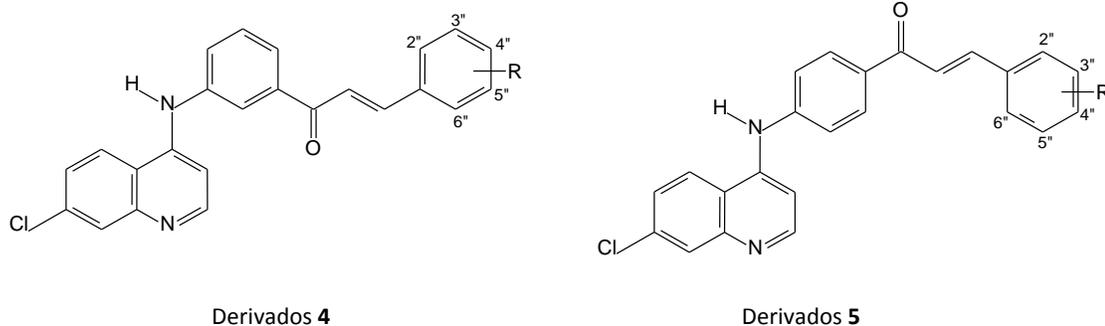
ENSAYO DE INHIBICIÓN DE LA FORMACIÓN DE β -HEMATINA (IF β H)¹⁴⁶

Los protozoos del género *Plasmodium*, en su fase eritrocítica hidrolizan la fracción proteica de la hemoglobina a través de un conjunto de enzimas proteolíticas (cisteínicas, aspárticas y metaloproteasas) y dejan libre a los aminoácidos que requieren para la síntesis de sus propias proteínas y a los grupos hemo. Estos últimos son altamente oxidantes para los parásitos, principalmente sobre los componentes de sus membranas, y otros blancos moleculares. La toxicidad del grupo hemo, es controlada por el parásito mediante el desarrollo de mecanismos que lo transforman en productos de degradación no tóxicos o mediante su biomineralización o cristalización en las condiciones ácidas de su vacuola digestiva bajo una forma inocua e insoluble, denominada hemozoina^{147, 33}.

La hemozoina presenta características espectrales, en el infrarrojo idénticas a la de la β -hematina y se ha demostrado que es un cristal de unidades de hemo enlazadas a través de puentes Fe-carboxilato entre ión férrico central de un hemo y el grupo carboxilo del propionato del próximo hemo, formando dímeros que se enlazan unos a otros mediante puentes de hidrógeno dando origen al cristal de la β -hematina¹⁴⁸. Existen evidencias de que este proceso puede darse espontáneamente bajo las condiciones de acidez imperantes en la vacuola digestiva del parásito. Sobre la base de este hecho, se evaluó la actividad de los compuestos sintetizados durante esta investigación, para interferir con este proceso, considerando que aquellos que inhiban la cristalización del hemo, tal como la CQ, podrían ser antimaláricos potenciales. Se evaluó el efecto de 13 derivados (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) y de 12 derivados (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino) fenil)-3-(fenilsustituido) prop-2-eno-

1-ona (**5**), sobre el proceso de formación de β -hematina. Los valores de IF β H obtenidos para ambas series de compuestos, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Efecto de los derivados **4** y **5** sobre la inhibición de la formación de la β -hematina.



Compuesto	R	% IF β H \pm SD	Compuesto	R	% IF β H \pm SD
4a	4''-CH ₃	54,56 \pm 0,029	5a	4''-CH ₃	85,84 \pm 016
4b	2'',3''-OCH ₃	1,22 \pm 0,28	5b	2'',3''-OCH ₃	2,97 \pm 0,02
4c	2'',4''-OCH ₃	61,97 \pm 0,03	5c	2'',4''-OCH ₃	91,64 \pm 0,05
4d	2'',5''-OCH ₃	44,76 \pm 0,21	5d	2'',5''-OCH ₃	75,22 \pm 0,20
4e	3'',4''-OCH ₃	89,73 \pm 0,21	5e	3'',4''-OCH ₃	86,78 \pm 0,03
4f	3'',5''-OCH ₃	80,66 \pm 006	5f	3'',5''-OCH ₃	14,87 \pm 0,27
4g	2'',4'',5''-OCH ₃	84,24 \pm 0,32	5g	2'',4'',5''-OCH ₃	90,24 \pm 0,001
4h	3'',4'',5''-OCH ₃	7,44 \pm 0,06	5h	3'',4'',5''-OCH ₃	78,48 \pm 0,36
4i	2'',4'',6''-OCH ₃	87,75 \pm 0,001	5j	2'',4'',5''-CH ₃	46,26 \pm 0,034
4j	2'',4'',5''-CH ₃	35,68 \pm 0,143	5k	3'',4'' O-CH ₂ -O	8,53 \pm 0,17
4k	4'',5'' O-CH ₂ -O	31,06 \pm 0,02	5l	4''-Cl	6,94 \pm 0,02
4l	4''-Cl	94,29 \pm 0,02	5m	4''-F	76,60 \pm 0,04
4m	4''-F	76,60 \pm 0,04	Cloroquina		94,32 \pm 0,01

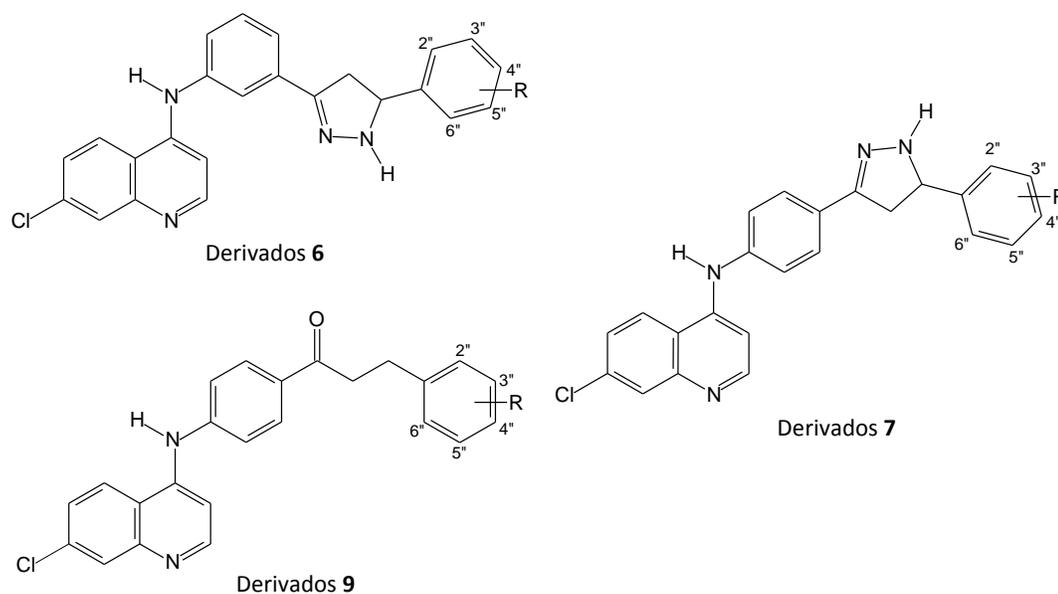
Los resultados obtenidos en la evaluación del efecto de los derivados (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) sobre la formación de la β -hematina, indican que los compuestos **4e**, **4f**, **4g**, **4i**, **4l** y **4m**, mostraron actividades inhibitorias importantes, siendo el más activo el derivado **4l**, que mostró un valor de % IF β H de 94,29 %, comparable al de la CQ, fármaco activo de referencia que es de 94,32 %. Los resultados obtenidos para los derivados (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino) fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**5**) indican que estos derivados tienen una actividad en este ensayo similar a la de los derivados **4**, siendo los derivados **5a**, **5c**, **5d**, **5e**, **5g**, **5h** y **5m**, los que mostraron mejores efectos inhibitorios sobre el proceso de formación de la β -hematina, encontrándose que el derivado **5c** fue el más promisorio con un valor de % IF β H de 91,64 %.

Los resultados de la evaluación del efecto sobre el proceso de inhibición de formación de la β -hematina de 5 derivados 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil) quinolin-4-amina (**6**), 7 derivados 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**7**) y el derivado 1-(4-(7-cloro quinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)úrea (**9d**) se muestra en la Tabla 3. Los resultados obtenidos para los derivados **6** muestran que los compuestos **6e**, **6f**, **6g**, **6j** y **6l** presentan un valor de %IF β H superiores al 80 %. En el caso de los derivados **7** y el compuesto **9d**, se obtuvieron valores menores en este ensayo, solo los compuestos **7g**, **7j**, **7k** y **7l** tienen un valor de %IF β H superior al 70%, y el compuesto **9d** resultó con una actividad buena al presentar un valor de 75,31 %.

Con base al análisis de estos resultados podemos inferir que hay sustituciones en el anillo fenilo que parecen conferir un aumento en el efecto inhibidor de la formación de la β -hematina a estos derivados como lo son:

- La sustitución 3,4-dimetoxi que presentan los compuestos **4e**, **5e** y **6e**.
- La substitución 2,4,5-trimetoxi presente en los derivados **4g**, **5g**, **6g** y **7g**.

Tabla 3. Efecto de los derivados tipo **6**, **7** y del compuesto **9d**, sobre la inhibición de la formación de la β -hematina.



Compuesto	R	% IF β H \pm SD	Compuesto	R	% IF β H \pm SD
6e	3'',4''-OCH ₃	89,28 \pm 0,077	7c	2'',4''-OCH ₃	40,63 \pm 0,183
6f	3'',5''-OCH ₃	89,82 \pm 0,076	7d	2'',5''-OCH ₃	31,48 \pm 0,311
6g	2'',4'',5''-OCH ₃	87,69 \pm 0,093	7e	3'',4''-OCH ₃	9,97 \pm 0,513
6j	2'',4'',5''-CH ₃	88,65 \pm 0,043	7g	2'',4'',5''-OCH ₃	89,14 \pm 0,121
6l	4''-Cl	80,23 \pm 0,199	7j	2'',4'',5''-CH ₃	83,53 \pm 0,088
9d	2'',5''-OCH ₃	75,31 \pm 0,023	7k	3'',4'' O-CH ₂ -O	89,86 \pm 0,037
Cloroquina		91,98 \pm 0,078	7l	4''-Cl	89,21 \pm 0,009

Otro aspecto que cabe destacar es que la cetona α , β -insaturada parece no ser indispensable para la actividad inhibitoria de la formación de la β -hematina debido a que el derivado **5d**, que presenta fragmento chalcona, y el compuesto **9d**, en el que se redujo el doble enlace, mostraron valores de %IF β H muy similares de 75,22 % y 75,31 %, respectivamente.

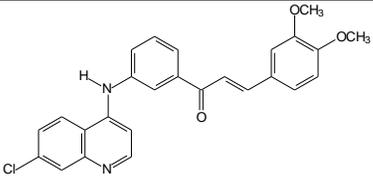
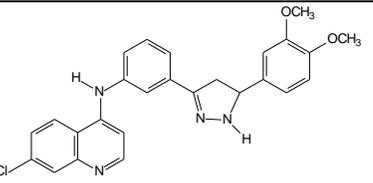
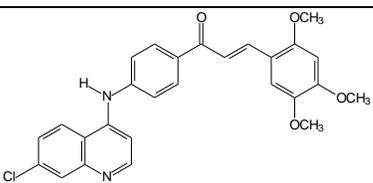
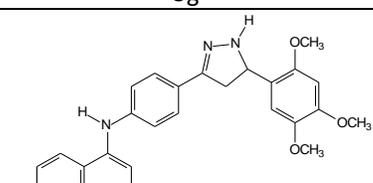
TEST SUPRESIVO DE CUATRO DÍAS O TEST DE PETER¹⁴⁹

Esta prueba se fundamenta en la determinación del potencial como antimalárico de un compuesto en base a su capacidad para reducir la parasitemia al cuarto día post-infección de los ratones en paralelo con la extensión de su sobrevivencia en relación al grupo control infectado y no tratado. Con base a la disponibilidad existente de ratones de experimentación, en una primera etapa se realizó el ensayo en los derivados **4e**, **6e**, **5g** y **7g**, los cuales mostraron alta capacidad para inhibir el proceso de formación de la β -hematina (89,73 %; 89,28 %, 90,24 % y 89,14 %, respectivamente) y que adicionalmente conformaban dos pares compuestos, de diferentes series, con el mismo patrón de sustitución (**4e** y **6e**, 3,4-dimetoxisustituidos; **5g** y **7g**, 2,4,5-trimetoxisustituidos) a fin de comparar como influye la rigidización de la funcionalidad cetona α,β -insaturada en la actividad antimalárica de éstos derivados.

En una segunda etapa se realizó la evaluación de otros compuestos que también mostraron con unos valores de inhibición de la formación de la β -hematina superiores al 80 % como lo fueron los derivados **5c**, **5e**, **5a**, **4f**, **4g** y **4i** con unos resultados de 91,64 %, 86,78 %, 85,84 %, 80,66 %, 84,24 % y 87,75 %, respectivamente.

En las Tablas 4 y 4a se muestran los resultados obtenidos después del tratamiento de los ratones con 1 dosis diaria por 4 días, de 20 mg/kg de los compuestos en estudio, en relación con los días de sobrevivencia de los animales y los valores de parasitemia observados el día 4 post-infección, así como los obtenidos para los controles sin tratamiento y con tratamiento con CQ. Con estos datos y tomando los valores observados en los controles sin tratamiento como 100% para ambos parámetros (DSPI y %P), se graficó el % de aumento de los días de sobrevivencia post-infección y el % de decaimiento de la parasitosis (Gráficos 2 y 2a).

Tabla 4. Resultados de la Prueba de Peters de los derivados **4e**, **6e**, **5g** y **7g**. Días de sobrevivencia de los ratones post-infección (DSPI). Parasitemias al 4^{to} día post-infección (% P).

Compuesto	DSPI	% P
Cloroquina	29,4 ± 0,89 **	0,32 ± 0,03 **
Control Infectado	8 ± 1,41	63,20 ± 1,14
 4e	26,4 ± 3,34 **	2,4 ± 0,89 **
 6e	24,2 ± 4,49 **	6,60 ± 1,14 **
 5g	8,4 ± 2,40 **	48 ± 3,67
 7g	23,8 ± 4,49 **	6,4 ± 1,81 **

Los resultados obtenidos indican que, con la excepción del derivado **5g**, todos los compuestos evaluados tienen capacidad para aumentar la sobrevivencia de los animales infectados, también son efectivos para reducir la parasitemia al cuarto día post-infección en relación a los controles no tratados.

Tabla 4a. Resultados de la Prueba de Peters de los derivados **5c**, **5e**, **5a**, **4f**, **4g** y **4i**. Días de supervivencia de los ratones post-infección (DSPI). Parasitemias al 4^{to} día post-infección (% P).

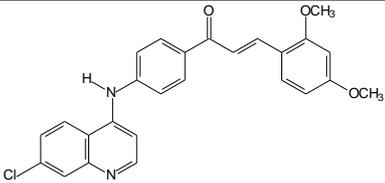
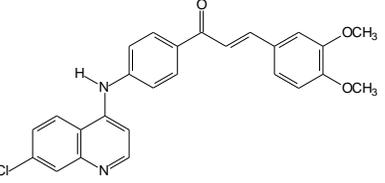
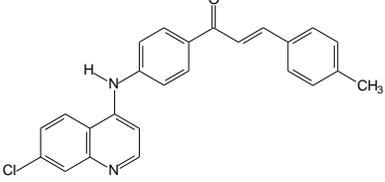
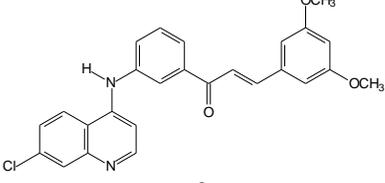
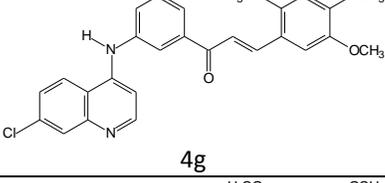
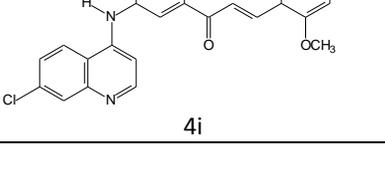
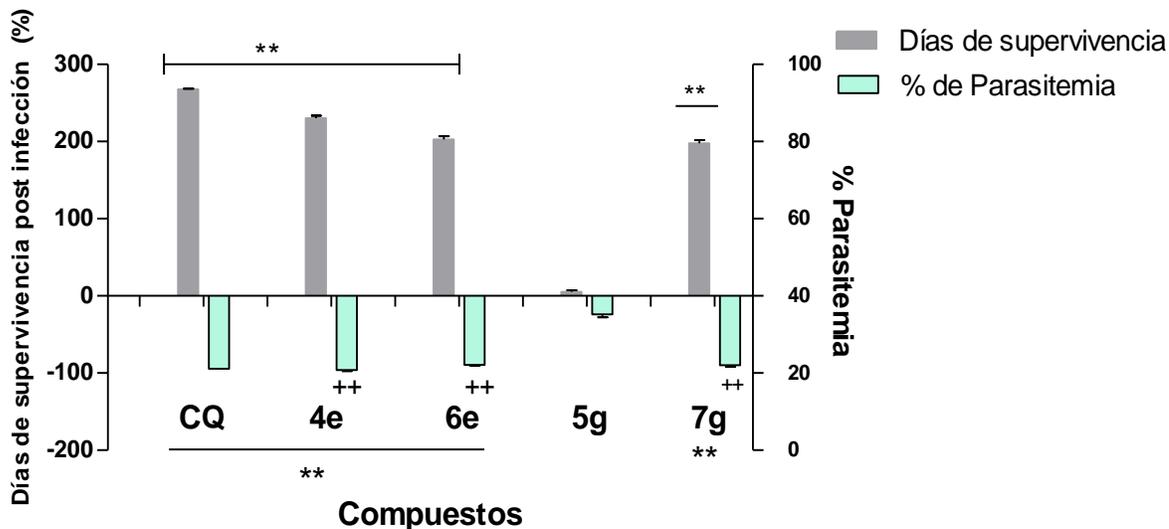
Compuesto	DSPI	% P
Cloroquina	29,4 ± 0,40	0,60 ± 0,08
Control Infectado	6,80 ± 0,70	65,20 ± 2,58
 5c	14,60 ± 1,47	2,33 ± 0,37
 5e	17,60 ± 2,18	3,06 ± 0,75
 5a	24,60 ± 2,54	1,72 ± 0,35
 4f	15,80 ± 1,53	2,74 ± 0,09
 4g	15 ± 1,09	3,80 ± 1,12
 4i	22,60 ± 1,53	1,90 ± 0,46

Gráfico 2. Días de supervivencia post infección y % de parasitemia de los ratones tratados con los derivados **4e**, **6e**, **5g** y **7g** por cuatro días.



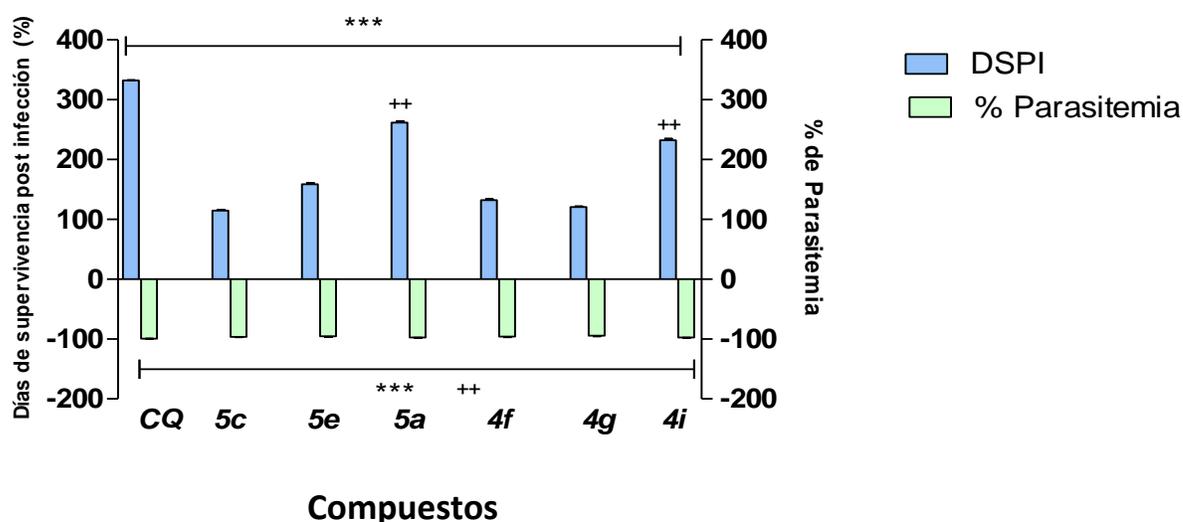
Modificaciones de la parasitemia (%) al cuarto día post-infección y de los días de supervivencia post-infección (DSPI) de ratones tratados con los diferentes compuestos. Valor cero (0,00) representa el control. Las barras representan la media \pm S.D., **p<0,05, comparado con el control infectado.

Los resultados obtenidos muestran que los derivados **4e**, **4i**, **5a**, **6e** y **7g** fueron los que mostraron una mayor actividad debido a que proporcionan más de 20 días de supervivencia después de la infección (más de un 200 % de incremento) y una parasitemia de alrededor de 2 % (aproximadamente 100 % de reducción) en comparación con el control.

En lo referente a la farmacomodulación realizada en la funcionalidad cetona α,β -insaturada de los derivados **4e** y **5g**, para la obtención de sus respectivos derivados ciclados, **6e** y **7g**, se puede inferir que fue bastante favorable para la actividad antimalárica, ya que origina compuestos con actividades similares y superiores. En el caso del compuesto **4e**, su derivado rígido **6e**, se observa la disminución de sólo dos días en la

sobrevivencia de los ratones post-infección. En cuanto al derivado **5g**, la modificación molecular favoreció la actividad significativamente, puesto que en el derivado **7g** se observa un aumento de los días de supervivencia post infección de 187 % y una disminución de la parasitemia de 89 % en comparación con el derivado no ciclado **5g** que presenta unos valores de 5 % y 23 % respectivamente. Con base a estos resultados obtenidos podríamos postular que el efecto antimalárico de estos derivados está relacionado con un mecanismo de inhibición de la formación de la β -hematina.

Gráfico 2a. Días de supervivencia post infección y % de parasitemia de los ratones tratados con los derivados **5c**, **5e**, **5a**, **4f**, **4g** y **4i** por cuatro días.



Modificaciones de la parasitemia (%) al cuarto día post-infección y de los días de supervivencia post-infección (DSPI) de ratones tratados con los diferentes compuestos. Valor cero (0,00) representa el control. Las barras representan la media \pm S.D., *** $p < 0,001$, comparado con el control infectado. Las barras representan la media \pm S.D., ++ $p < 0,05$, comparado con la cloroquina.

5.2.2. ACTIVIDAD ANTINEOPLÁSICA

La manera más apropiada y ampliamente utilizada para evaluar la capacidad antiproliferativa y/o citotóxica de los compuestos es mediante cultivos celulares, los cuales también pueden ser indicadores de actividad carcinogénica y mutagénica¹⁵⁰. La determinación del efecto de los derivados 7-cloroquinolina-4-sustituidos sobre la viabilidad y proliferación celular se realizó en cuatro líneas celulares neoplásicas humanas y en linfocitos humanos normales obtenidos de sangre periférica y sobre el proceso de apoptosis en las cuatro líneas celulares neoplásicas.

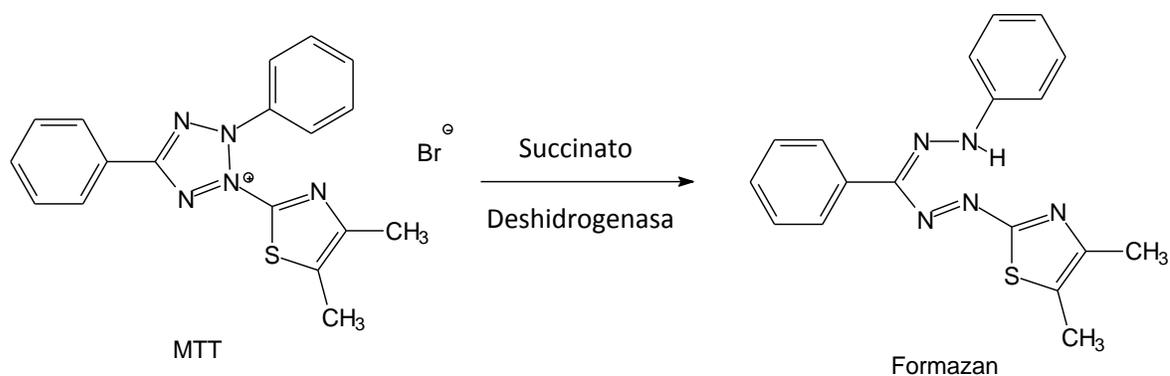
La línea celular Jurkat clon E6.1 (Leucemia linfocítica humana) fue establecida de la sangre periférica de un adolescente de 14 años de edad con leucemia aguda de células T en la primera fase de recaída en el año 1976. La línea celular HL60 (leucemia humana promielocítica) se derivó de una mujer de 36 años con leucemia promielocítica aguda en el Instituto nacional del cáncer. La línea celular MCF-7 es de cáncer de mama aislada en 1970 de una mujer de 69 años de edad, de raza caucásica, MCF-7 es el acrónimo de Michigan Cancer Foundation-7, en referencia al instituto en Detroit, donde se estableció la línea celular en 1973. La línea celular A549 (carcinoma de pulmón de células no pequeñas) fue la primera línea celular desarrollada, en el año 1972, a través de la remoción y cultivo de un tumor canceroso del pulmón de un paciente caucásico de 58 años de edad.

MÉTODO DEL BROMURO DE 3-(4,5-DIMETILTIAZOL-2-IL)-2,5-DIFENILTETRAZOLIO (MTT)

Este ensayo se fundamenta en la reducción de esta sal de tetrazolio por las células viables, basándose en que las enzimas deshidrogenadas, usando NADH o NADPH como coenzimas, pueden convertir la forma amarilla de la sal del MTT, soluble en agua, en cristales insolubles de formazán de color púrpura (Figura 51). Con este ensayo se evalúa el crecimiento celular y la viabilidad (actividad de la mitocondria) mediante la determinación

espectrofotométrica de la solución resultante de los cristales de formazán disueltos en DMSO. El efecto de los compuestos sobre el crecimiento celular se expresó como el porcentaje de la viabilidad celular, donde las células tratadas con vehículo fueron tomadas como 100 % viables¹⁵¹.

Figura 51. Fundamento del ensayo de MTT.



Los resultados obtenidos sobre el efecto de viabilidad y proliferación celular de los derivados (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) contra las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL-60 se muestran en la Tabla 5. Se puede observar que algunos compuestos exhibieron una actividad antiproliferativa significativa contra las líneas celulares de cáncer humano evaluadas en comparación con el antineoplásico doxorubicina, el As₂O₃ y la CQ. En lo que respecta a las células Jurkat E6.1, los compuestos **4b**, **4c**, **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4i**, **4k**, **4l** y **4m** mostraron una poderosa inhibición de la proliferación a las 24h de tratamiento, con valores de Cl₅₀ menores de 5 μM. Este grupo de compuestos fue hasta 40 veces más potentes que la CQ. El compuesto más activo fue el **4i** con un Cl₅₀ de 1,93 μM.

Tabla 5. Efecto de los derivados (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenil sustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) sobre la proliferación de las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL60.

Compuesto	CI ₅₀ Jurkat E6.1 (μM)			CI ₅₀ HL60 (μM)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
4a	8,05	8,42	9,87	1,19	3,24	8,17
4b	2,27	2,95	2,92	2,74	2,77	3,43
4c	4,00	3,37	3,03	2,07	1,98	1,84
4d	2,93	3,37	3,22	3,90	2,27	1,38
4e	3,44	5,12	8,21	2,88	1,98	1,84
4f	4,30	4,69	5,13	2,32	1,96	1,66
4g	2,18	2,41	1,53	1,08	1,28	2,36
4h	> 50	> 50	> 50	> 100	> 100	> 100
4i	1,93	2,75	2,87	2,15	0,65	1,12
4j	6,17	14,19	12,91	9,42	7,69	8,99
4k	3,60	4,03	3,99	4,03	3,54	3,43
4l	2,94	2,97	3,18	0,59	3,21	3,09
4m	2,93	3,11	2,90	0,43	2,29	2,78
Cloroquina	83,64	67,92	51,31	> 100 (40,48 %)	87,08	73,08
Doxorrubicina	1,03	0,64 (639,6 nM)	0,198 (197,7 nM)	1,60	0,072 (72,17 nM)	0,071 (70,98 nM)
As₂O₃	7,32	6,45	4,02	4,97	3,23	5,62

Los compuestos **4a**, **4g**, **4l** y **4m** mostraron la mayor actividad inhibitoria del crecimiento de las células leucémicas HL60 después de 24h de tratamiento con valores de CI_{50} de 1,19 μ M, 1,08 μ M, 0,59 μ M y 0,43 μ M, respectivamente, siendo alguno de éstos, hasta tres veces más activos que la doxorubicina (CI_{50} de 1,60 μ M) y más de 100 veces más activos que la CQ (CI_{50} >100 μ M).

Los resultados obtenidos sobre el efecto de viabilidad y proliferación celular de los derivados (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) sobre las líneas celulares MCF-7 y A549 se muestran en la Tabla 6. Estos compuestos resultaron menos activos en la inhibición del proceso de proliferación en éstas células de tumores sólidos humanos. Los compuestos más activos fueron: **4c**, **4e**, **4f**, **4i**, **4l** y **4m**.

En las Tablas 7 y 8 se indican los valores de CI_{50} de los derivados (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**5**), sobre las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL60 y contra las líneas celulares A549 y MCF-7, respectivamente. Los compuestos **5**, exhibieron una menor potencia inhibitoria del crecimiento de las células HL60, Jurkat E6.1, que los compuestos **4**, indicando que el patrón de sustitución 3-fenilamino, como el que tienen los compuestos **4**, proporciona mayor actividad antiproliferativa en las líneas celulares de leucemia ensayadas que el patrón 4-fenilamino, que tienen los compuestos **5**. Igualmente, en la serie de compuestos más activos (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenil sustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) la presencia de los grupos metoxi aumentó significativamente la actividad antiproliferativa.

Los resultados obtenidos sobre el efecto de viabilidad y proliferación celular de los derivados 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsusituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** y **7**) seleccionados y del derivado 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil) propan-1-ona, **9d**, contra las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL60 se muestran en la Tabla 9.

Tabla 6. Efecto de los derivados (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**4**) sobre la proliferación de las líneas celulares A549 y MCF-7.

Compuesto	CI ₅₀ A549 (μM)			CI ₅₀ MCF-7 (μM)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
4a	27,96	23,47	22,36	35,70	32,52	23,74
4b	19,35	15,44	7,60	15,41	11,14	7,93
4c	10,82	9,61	9,93	7,61	6,60	6,09
4d	29,57	16,17	14,81	13,61	13,30	3,81
4e	14,78	5,35	5,34	9,88	7,01	1,74
4f	13,51	2,00	2,47	8,32	7,02	2,69
4g	22,81	28,10	21,12	27,90	13,78	5,82
4h	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
4i	8,34	5,83	6,52	10,99	7,08	3,10
4j	33,06	25,92	23,80	> 50	> 50	15,93
4k	26,84	24,09	6,91	10,63	6,19	5,93
4l	-	8,82	8,77	8,70	7,83	2,83
4m	-	8,65	8,37	7,58	6,23	3,24
Cloroquina	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	76,52
Doxorrubicina	4,22	1,92	0,69	1,55	1,29	0,36
As₂O₃	> 50	26,96	14,89	> 50	8,96	1,94

Tabla 7. Efecto de los derivados (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**5**) sobre la proliferación de las líneas celulares Jurkat E6.1 y HL60.

Compuesto	CI ₅₀ Jurkat E6.1 (μM)			CI ₅₀ HL60 (μM)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
5a	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
5b	26,35	29,58	42,26	> 50	> 50	> 50
5c	10,36	11,90	13,26	13,46	11,43	9,77
5d	28,50	> 50	> 100	> 100	> 100	> 100
5e	21,72	67,03	89,73	> 100	> 100	> 100
5f	17,69	51,62	> 100	> 100	> 100	> 100
5g	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
5h	21,41	20,20	30,79	90,96	36,18	15,15
5j	38,28	46,50	30,00	25,27	32,44	27,00
5k	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
5l	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
5m	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
Cloroquina	83,64	67,92	51,31	>100 (40,48 %)	87,08	73,08
Doxorrubicina	1,03	0,64 (639,6 nM)	0,198 (197,7 nM)	1,60	0.072 (72,17 nM)	0,071 (70,98 nM)
As₂O₃	7,32	6,45	4,02	4,97	3,23	5,62

Tabla 8. Efecto de los derivados (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona (**5**) sobre la proliferación de las líneas celulares A549 y MCF-7.

Compuesto	CI ₅₀ A549 (μM)			CI ₅₀ MCF-7 (μM)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
5a	> 50	> 50	> 50	43,22	45,52	41,31
5b	> 50	> 50	> 50	32,41	41,18	20,84
5c	26,45	25,11	23,52	12,17	11,94	10,80
5d	32,85	18,97	14,59	26,80	17,29	11,24
5e	> 50	> 50	> 50	47,51	38,07	45,23
5f	37,87	14,42	10,01	14,81	9,10	4,40
5g	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	18,07
5h	26,94	25,97	37,68	20,37	14,60	9,86
5i	> 50	> 50	> 50	26,48	25,31	27,96
5j	> 50	> 50	> 50	48,78	48,28	18,67
5k	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	27,84
5l	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	39,67
5m	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	45,59
Cloroquina	> 100	> 100	>100	> 100	> 100	76,52
Doxorrubicina	4,22	1,92	0,69	1,55	1,29	0,36
As₂O₃	> 50	26,96	14,89	> 50	8,96	1,94

Tabla 9. Efecto de los derivados 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** y **7**) y del derivado 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)propan-1-ona, **9d**, sobre la proliferación de las líneas celulares Jurkat E.1 y HL60.

Compuesto	CI ₅₀ Jurkat E6.1 (μM)		CI ₅₀ HL60 (μM)	
	24 h	48 h	24 h	48 h
6e	3,17	3,47	0,94	2,28
6g	5,44	3,71	2,39	6,37
6j	5,67	3,58	12,34	5,15
6l	6,92	6,22	6,23	2,33
7c	17,89	11,18	8,74	11,23
7d	17,56	18,43	21,18	19,20
7g	23,77	22,70	11,34	12,74
7j	30,34	>50	19,64	30,57
7k	36,35	28,84	22,36	12,00
7l	6,31	12,38	6,17	12,59
9d	6,54	5,47	8,43	5,25
Cloroquina	83,64	67,92	83,64	67,92
Doxorrubicina	1,03	0,64 (639,6nM)	1,03	0,64 (639,6nM)
As₂O₃	7,32	6,45	7,32	6,45

En estos resultados se evidencia que los derivados **6** mostraron una mayor potencia inhibitoria del crecimiento de las células Jurkat E6.1 y HL60, que los compuestos **7** y que el compuesto **9d**, validando nuestra tesis que el patrón de sustitución 3-fenilamino, proporciona una mayor actividad antiproliferativa en estas líneas celulares que el patrón 4-fenilamino. El derivado que resultó más activo fue el **6e**, con unas CI_{50} de 0,94 μM a las 24 horas de tratamiento y 2,28 μM a las 48 horas de tratamiento.

El efecto de los derivados **4**, **5**, **6** y **7** seleccionados y del compuesto **9d**, sobre la viabilidad de los linfocitos humanos normales obtenidos de sangre periférica y tratados con concentraciones crecientes de los compuestos por 24 h, se muestra en la Tabla 10. En esta se evidencia que los valores obtenidos de CI_{50} de los derivados ensayados en éstas células humanas normales tratados con los compuestos más activos son bastantes elevados, lo que es indicativo de una menor toxicidad. El compuesto **4e**, uno de los más activos de las series ensayadas, con unas CI_{50} en las células HL60 de 2,88 μM , 198 μM y 1,84 μM a las 24 h, 48 h y 72 h, mostró un valor de CI_{50} sobre los linfocitos humanos normales de 45,92 μM . Todos los derivados **6** y **7** ensayados resultaron con concentraciones inhibitorias de la viabilidad de las células normales bastantes elevadas por el orden de los 40-50 μM .

Los resultados obtenidos en la determinación del índice de seguridad de los derivados 7-cloroquinolina-4-sustituidos seleccionados, en linfocitos T humanos normales, se muestra en la Tabla 11. Los resultados obtenidos muestran que los derivados **4e**, **4f**, **4j**, **4m**, **6e**, **6g**, **6j**, **6l**, **7l** y **9d**, presentan un índice de citotoxicidad menor que la CQ. Tabla 11

Tabla 10. Efecto de los derivados (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido) prop-2-en-1-ona (**4** y **5**), 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil) quinolin-4-amina (**6** y **7**) seleccionados y del compuesto 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)propan-1-ona, **9d**, sobre la viabilidad de los linfocitos humanos normales obtenidos de sangre periférica. Las células fueron tratadas con concentraciones crecientes de los compuestos por 24h.

Compuesto	CI ₅₀ (μM)	Compuesto	CI ₅₀ (μM)
4a	15,24	5j	> 50
4b	7,56	6e	45,92
4c	8,28	6g	> 50
4d	10,25	6j	> 50
4e	> 50	6l	41,45
4f	> 50	7c	> 50
4g	7,70	7d	> 50
4i	5,08	7g	> 50
4j	> 50	7j	> 50
4k	15,35	7k	43,82
4l	5,05	7l	48,40
4m	19,39	9d	> 50
5c	35,40	CQ	> 50
5f	> 50	Doxorrubicina	8,03
5h	> 50	As₂O₃	17,45

Tabla 11. Índice de Selectividad de los derivados 7-cloroquinolina-4-sustituidos seleccionados para las células Jurkat E6.1.

Compuesto	CI_{50} Linfocitos normales CI_{50} Jurkat E6.1	Compuesto	CI_{50} Linfocitos normales CI_{50} Jurkat E6.1
4a	1,89	5j	> 1,31
4b	3,33	6e	14,49
4c	2,07	6g	> 9,19
4d	3,50	6j	8,82
4e	> 14,53	6	5,99
4f	> 11,63	7c	> 2,79
4g	3,53	7d	> 2,85
4h	2,63	7g	2,10
4i	> 8,10	7j	> 1,65
4j	4,26	7k	> 1,21
4k	1,72	7l	7,67
4l	6,62	9d	> 9,03
4m	3,42	CQ	> 1,20
5c	> 2,82	As₂O₃	2,38
5f	1,31	Doxorrubicina	7,79

El Índice de Selectividad es el cociente entre la CI_{50} en Linfocitos humanos normales obtenidos de sangre periférica y la CI_{50} en las células Jurkat E6.1. Las células normales se trataron con concentraciones crecientes de los compuestos por 24h, la viabilidad celular fue evaluada por el método del MTT

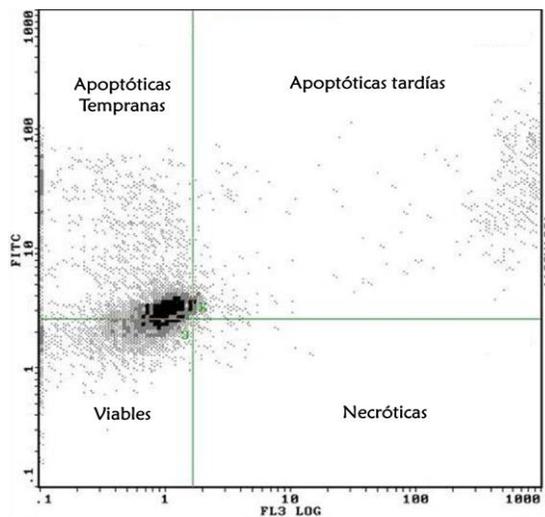
ENSAYO DE LA UNIÓN DE LA ANEXINA V

La translocación y acumulación rápida del fosfolípido fosfatidilserina (PS) de la interfase citoplasmática de la membrana en la superficie celular es un indicador temprano de la apoptosis. Esto se debe a que la distribución de los grupos de PS en la membrana plasmática es asimétrica, de forma tal que la PS se encuentra en el interior de la célula y durante la apoptosis se pierde esta asimetría de la membrana y los grupos PS son expuestos al exterior, lo cual puede ser detectado usando las propiedades de unión de la anexina V a la PS.

La anexina V es una proteína de unión a fosfolípidos dependiente de Ca^{2+} , que interactúa con alta afinidad y especificidad con los residuos de PS en las células vivas, por consiguiente la unión de la PS con la anexina V es un marcador bioquímico establecido para la apoptosis y se evidencia mediante su conjugación con el colorante fluorescente isotiocianato de fluoresceína (FITC) y un marcaje adicional con yoduro de propidio (IP)¹⁵².

Esta doble tinción de la Anexina V-FITC/IP se utiliza para determinar si los compuestos inducen la disminución de la viabilidad celular por la vía de la apoptosis o la necrosis. Las células se analizaron sobre la base de cuatro grupos: Células sanas, células apoptóticas tempranas, células apoptóticas tardías y células necróticas. Las células que no presenten tinción para la anexina V-FITC o IP serán consideradas sanas, aquellas que se tiñan solamente para la anexina V-FITC serán consideradas apoptóticas tempranas, las que se tiñan para anexina V-FITC e IP serán tomadas como células apoptóticas tardías y finalmente las células que sólo sean teñidas con IP y no anexina V-FITC serán tomadas como células necróticas. (Gráfico 3).

Gráfico 3. Análisis de citometría de flujo.



Los gráficos de densidad de puntos obtenidos para los derivados **4** y el derivado **5c**, seleccionados para esta doble tinción con Anexina V-FITC/IP, en las líneas celulares Jurkat E6.1, HL60, A549 y MCF-7, se muestra en los Gráficos 4, 5, 6 y 7, respectivamente. Los resultados obtenidos de estos gráficos se muestran en las Tablas 12, 13, 14 y 15, respectivamente. En el análisis de los gráficos dot plot, para las cuatro líneas celulares ensayadas, se evidenció que el tratamiento con los derivados **4** y **5**, al igual que la doxorubicina (1 μ M), la quercetina (50 μ M); la CQ (100 μ M), y el As_2O_3 (10 μ M) generó un aumento dependiente de la dosis en el porcentaje de células positivas para la Anexina V-FITC (apoptosis temprana y tardía). Mientras el tratamiento con la doxorubicina indujo un 32,2 % de marcadas exclusivamente con el IP (células necróticas), ninguno de los derivados de 7-cloroquinolina-4-sustituídos indujeron el proceso de necrosis en estas células.

Gráfico 4. Graficos de densidad de punto de las células apoptóticas después del tratamiento de las células Jurkat E6.1 con los derivados **4** y **5** seleccionados. Después del tratamiento por 24h, las células fueron lavadas en una oportunidad y luego marcadas con Anexina V-FITC y IP y analizadas por citometría de flujo. Los datos son expresados como el porcentaje de las células positivas para la Anexina V-FITC.

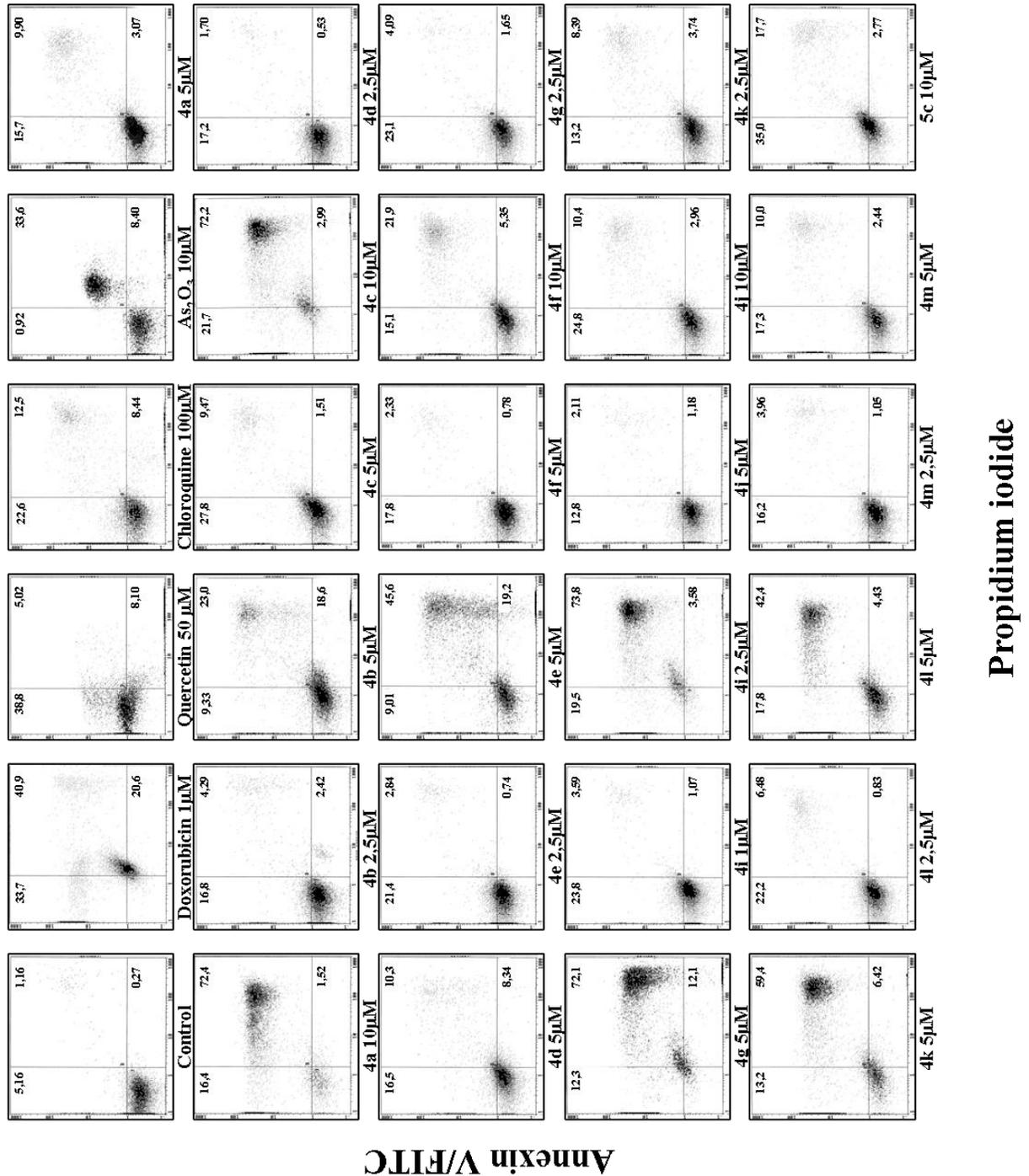


Gráfico 5. Graficos de densidad de punto de las células apoptóticas después del tratamiento de las células HL60 con los derivados **4** y **5** seleccionados. Después del tratamiento por 24h, las células fueron lavadas en una oportunidad y luego marcadas con Anexina V-FITC y IP y analizadas por citometría de flujo. Los datos son expresados como el porcentaje de las células positivas para la anexina V-FITC.

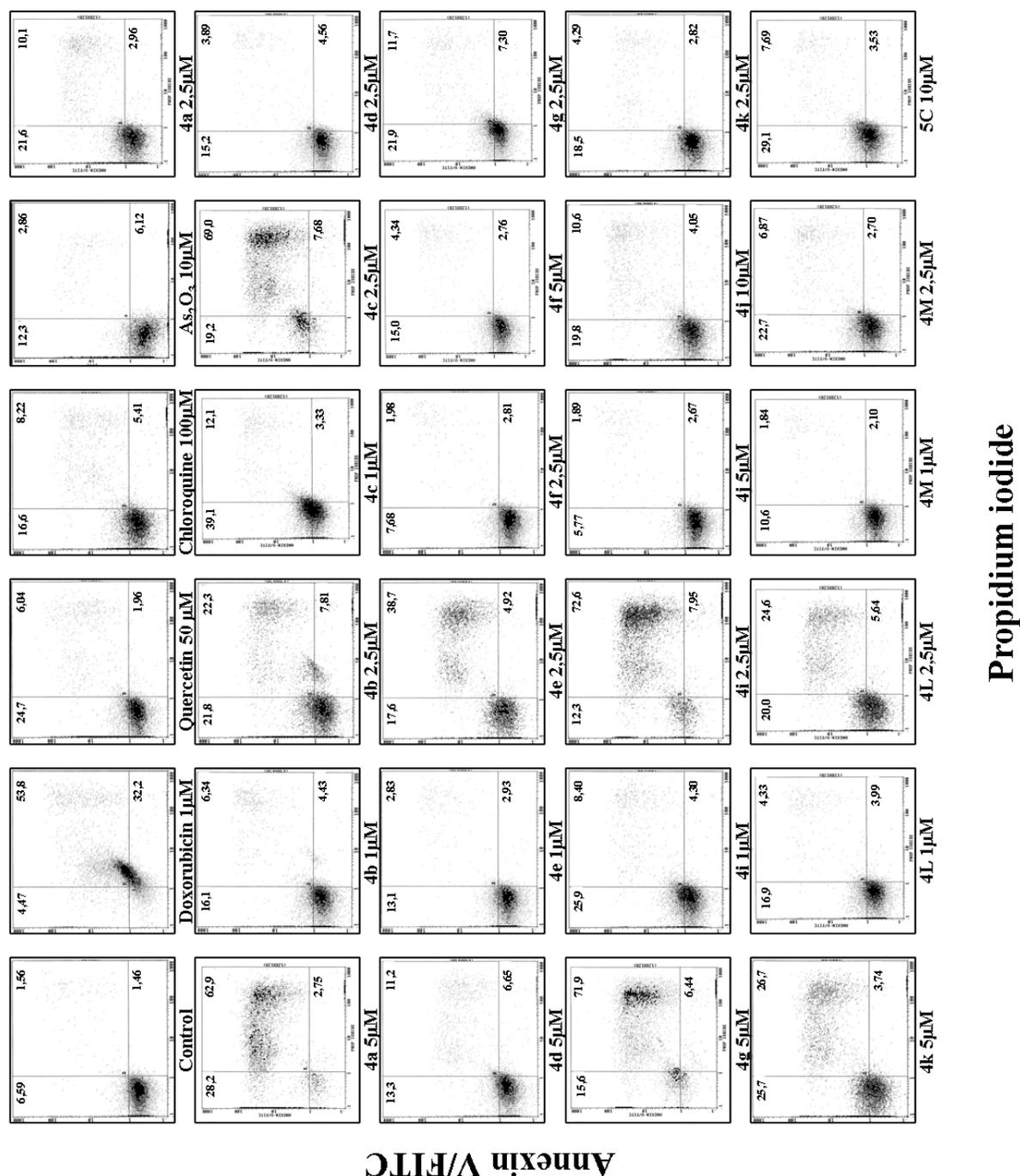


Gráfico 6. Graficos de densidad de punto de las células apoptóticas después del tratamiento de las células MCF-7 con los derivados **4** y **5** seleccionados. Después del tratamiento por 24h, las células fueron lavadas en una oportunidad y luego marcadas con Anexina V-FITC y IP y analizadas por citometría de flujo. Los datos son expresados como el porcentaje de las células positivas para la anexina V-FITC.

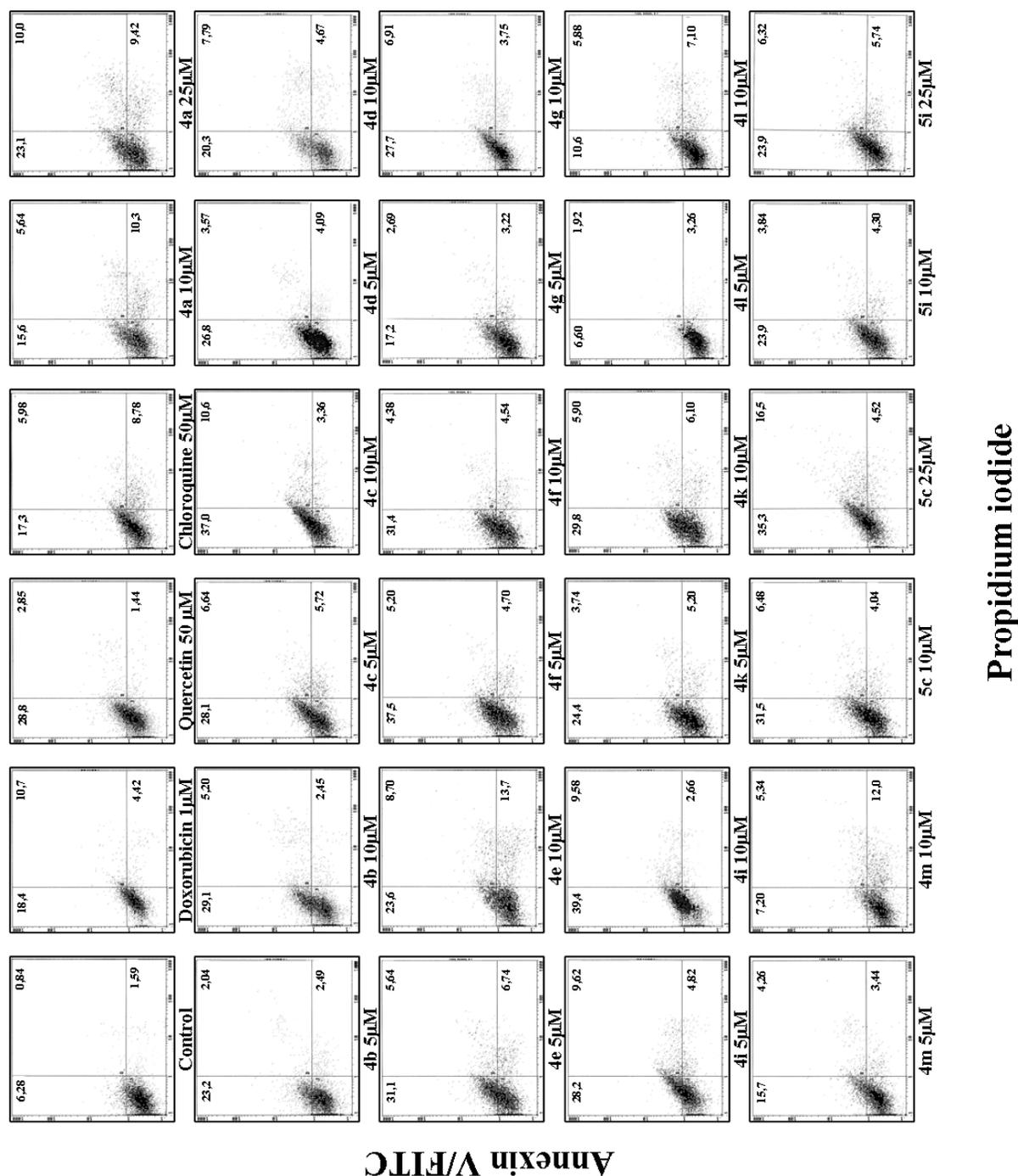
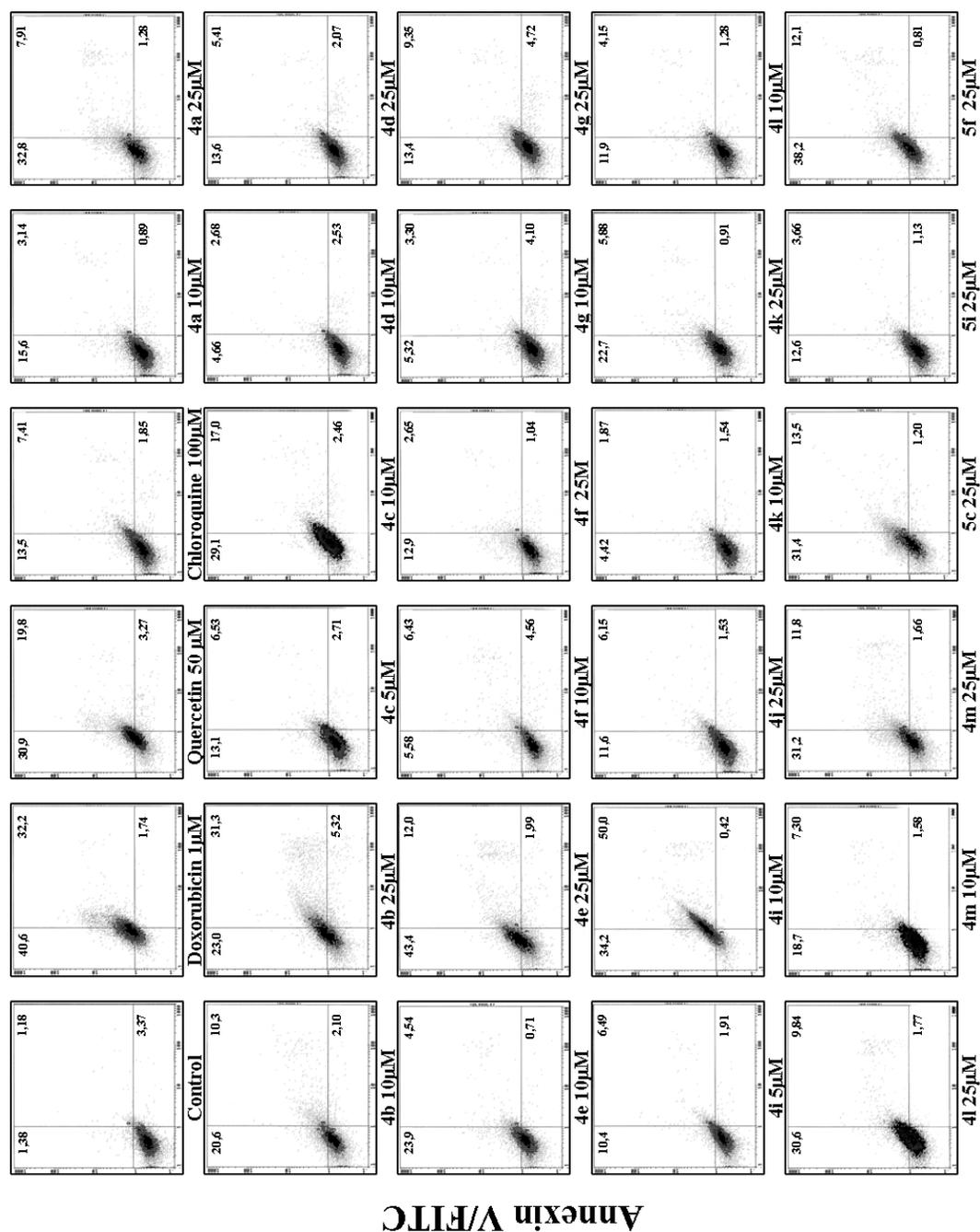


Gráfico 7. Graficos de densidad de punto de las células apoptóticas después del tratamiento de las células A549 con los derivados **4** y **5** seleccionados. Después del tratamiento por 24h, las células fueron lavadas en una oportunidad y luego marcadas con Anexina V-FITC y IP y analizadas por citometría de flujo. Los datos son expresados como el porcentaje de las células positivas para la anexina V-FITC.



Propidium iodide

Annexin V/FITC

Tabla 12. Resultados obtenidos después del tratamiento de las células Jurkat E6.1 con los derivados **4** y **5** seleccionados.

Compuesto	Concentración (μM)	Apoptosis Temprana (%)	Apoptosis Tardía (%)	Necrosis (%)
4a	5	15,70	9,90	3,07
	10	16,40	72,40	1,52
4b	2,5	16,80	4,29	2,42
	5	9,33	23,00	18,60
4c	5	27,80	9,47	1,51
	10	21,70	72,20	2,99
4d	2,5	17,20	1,70	0,53
	5	16,50	10,30	8,34
4e	2,5	21,40	2,84	0,74
	5	9,01	45,6	19,2
4f	5	17,80	2,33	0,78
	10	15,10	21,9	5,35
4g	2,5	23,10	4,09	1,65
	5	12,30	72,10	12,1
4i	1	23,80	3,59	1,07
	2,5	19,50	73,80	3,58
4j	5	12,80	2,11	1,18
	10	24,80	10,4	2,96
4k	2,5	13,20	8,39	3,74
	5	13,20	59,40	6,42
4l	2,5	22,20	6,48	0,83
	5	17,80	42,40	4,43
4m	2,5	16,20	3,96	1,05
	5	17,30	10,0	2,44
5c	10	35,00	17,70	2,77
Control		5,15	1,16	0,27
Doxorrubicina 1 μM		33,7	40,9	20,6
Quercetina 50 μM		38,8	5,02	8,10
Cloroquina 100 μM		22,6	12,50	8,44
As₂O₃ 10 μM		0,92	33,60	8,40

Tabla 13. Resultados obtenidos después del tratamiento de las células HL60 con los derivados **4** y **5** seleccionados.

Compuesto	Concentración (μM)	Apoptosis Temprana (%)	Apoptosis Tardía (%)	Necrosis (%)
4a	2,5	21,60	10,10	2,96
	5	28,20	62,90	2,75
4b	1	16,10	6,34	4,43
	2,5	21,80	22,30	7,81
4c	1	39,10	12,10	3,33
	2,5	19,20	69,00	7,68
4d	2,5	15,20	3,89	4,56
	5	13,30	11,20	6,65
4e	1	13,10	2,83	2,93
	2,5	17,60	38,70	4,92
4f	2,5	7,68	1,98	2,81
	5	15,00	4,34	3,76
4g	2,5	21,90	11,70	7,30
	5	15,60	71,90	6,44
4i	1	25,90	8,40	4,30
	2,5	12,30	72,60	7,95
4j	5	5,77	1,89	2,67
	10	19,80	10,60	4,05
4k	2,5	18,50	4,29	2,82
	5	25,70	26,70	3,74
4l	1	16,90	4,33	3,99
	2,5	20,00	24,60	5,64
4m	1	10,60	1,84	2,10
	2,5	22,70	6,87	2,70
5c	10	29,10	7,69	3,53
Control		3,59	1,56	1,46
Doxorrubicina 1 μM		4,47	53,8	32,20
Quercetina 50 μM		24,70	6,04	1,96
Cloroquina 100 μM		16,60	8,22	5,41
As₂O₃ 10 μM		12,30	2,86	6,12

Tabla 14. Resultados obtenidos después del tratamiento de las células MCF-7 con los derivados **4** y **5** seleccionados.

Compuesto	Concentración (μM)	Apoptosis Temprana (%)	Apoptosis Tardía (%)	Necrosis (%)
4a	10	15,60	5,64	10,30
	25	23,10	10,00	9,42
4b	5	23,20	2,04	2,49
	10	29,10	5,20	2,45
4c	5	28,10	6,64	5,72
	10	37,00	10,60	3,36
4d	5	26,80	3,57	4,09
	10	20,30	7,79	4,67
4e	5	31,10	5,64	6,74
	10	23,60	8,70	13,70
4f	5	27,50	5,20	4,70
	10	31,40	4,38	4,54
4g	5	17,20	2,69	3,22
	10	27,70	6,91	3,75
4i	5	28,20	9,62	4,82
	10	39,40	9,58	2,66
4k	5	24,40	3,74	5,20
	10	29,80	5,90	6,10
4l	5	6,60	1,92	3,26
	10	10,60	5,88	7,10
4m	5	15,70	4,26	3,44
	10	7,20	5,34	12,00
5c	10	31,50	6,48	4,04
	25	35,30	16,50	4,52
5i	10	23,90	3,84	4,30
	25	23,90	6,32	5,74
Control		6,28	6,84	1,59
Doxorrubicina 1 μM		18,40	10,70	4,42
Quercetina 50 μM		28,80	2,85	1,44
Cloroquina 100 μM		17,30	5,98	8,78

Tabla 15. Resultados obtenidos después del tratamiento de las células A549 con los derivados **4** y **5** seleccionados.

Compuesto	Concentración (μM)	Apoptosis Temprana (%)	Apoptosis Tardía (%)	Necrosis (%)
4a	10	15,60	3,14	0,89
	25	32,80	7,91	1,28
4b	10	20,60	10,30	2,10
	25	23,00	31,30	5,32
4c	5	13,10	6,53	2,71
	10	29,10	17,00	2,46
4d	10	4,66	2,68	2,53
	25	13,60	5,41	2,07
4e	10	23,90	4,54	0,71
	25	43,40	12,00	1,99
4f	10	5,58	6,43	4,56
	25	12,90	2,65	1,04
4g	10	5,32	3,30	4,10
	25	13,40	9,35	4,72
4i	5	10,40	6,49	1,91
	10	34,20	50,00	0,42
4j	25	11,60	6,15	1,53
4k	10	4,42	1,87	1,54
	25	22,70	5,88	0,91
4l	10	11,90	4,15	1,28
	25	30,60	9,84	1,77
4m	10	18,70	7,30	1,58
	25	31,20	11,80	1,66
5c	25	31,40	13,50	1,20
5i	25	12,60	3,66	1,13
5f	25	38,20	12,10	0,81
Control		1,38	1,18	3,37
Doxorrubicina 1 μM		40,60	32,20	1,74
Quercetina 50 μM		30,90	19,80	3,27
Cloroquina 100 μM		13,50	7,41	1,85

PARTE EXPERIMENTAL

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. CONSIDERACIONES GENERALES

El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (TLC) empleando cromatofolios de sílica gel marca Merck tipo 60F₂₅H, de un espesor de capa de 0,2 mm. El análisis de las placas se llevó cabo mediante una lámpara de UV de 254/365 nm.

La purificación de los compuestos se realizó mediante cristalización, en cada caso se indica el disolvente empleado.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Thomas Hoover y no se corrigieron.

Los espectros de infrarrojo (IR) fueron registrados en un espectrofotómetro Shimadzu modelo IR-470. Se realizaron pastillas de KBr, las absorciones más importantes son reportadas en recíprocos de centímetro (cm^{-1}).

Los espectros de Resonancia Magnética nuclear de Protones y Carbonos (RMN ¹H y RMN ¹³C) se realizaron a temperatura ambiente, utilizando como disolvente dimetil sulfóxido deuterado (DMSO-d₆) en un espectrómetro JEOL ECLIPSE 270 (270 MHz/67.9 MHz), en cada caso se indican los desplazamientos químicos (δ) en la escala parte por millón (ppm), el número de protones (calculado por integración), el valor de las constantes de acoplamiento (*J*) en Hertz (Hz) y la asignación estructural de las mismas; las abreviaturas empleadas para indicar la multiplicidad de las señales son: singlete (s), singlete ancho (sa), doblete (d), triplete (t), doblete de dobletes (dd), triplete de dobletes (td) y multiplete (m).

Los análisis elementales (Anal.) fueron realizados en un analizador Perkin Elmer 2400 CHN, los resultados fueron entre $\pm 0,4$ % de los valores calculados para aquellos compuestos que se les determinó.

La evaluación de la posible actividad antimalárica se realizó de acuerdo a protocolos reportados *in vitro* mediante el Ensayo de inhibición de la formación de β -hematina (IF β H) e *in vivo* mediante el Test supresivo de cuatro días (Test o Prueba de Peter), en la Unidad de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela.

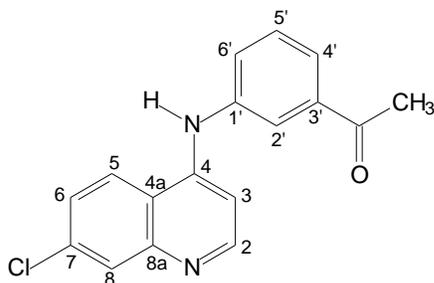
La determinación de la posible actividad antineoplásica se realizó mediante evaluación del efecto sobre el proceso de viabilidad y proliferación celular a través de la reducción colorimétrica de la sal 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) y la evaluación del efecto sobre el proceso de apoptosis a través de la expresión superficial de la fosfatidilserina mediante el Ensayo de la unión de la Anexina V/FITC, en el Instituto de Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

6.2. SECCIÓN QUÍMICA

6.2.1. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS INTERMEDIARIOS 1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona (**2 Y 3**)

En un balón fondo redondo de 50 mL provisto de un refrigerante, agitación magnética y calentamiento, se colocaron 1,000 g (5,0492 moles, 1 equiv.) de la 4,7-dicloroquinolina (**1**), 750,70 mg (5,5541 moles, 1,1 equiv.) de la 3 o de la 4-acetoaminofenona, según sea el caso, y 10 mL de etanol seco, bajo condiciones de reflujo entre 80-85 °C por 4 horas, obteniéndose un sólido que fue lavado con agua y éter etílico y recristalizado en etanol.

Intermediario 1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona, **2**



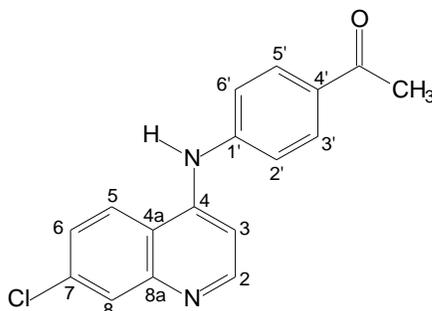
Rendimiento = 95,50 % pf = 223-224 °C. Literatura¹³³ = 223-225 °C.

IR ν_{\max} 3440 (NH); 1683 (C=O).

RMN ¹H δ 2.62 (s, 3H, CH₃), 6.86 (d, 1H, **H3**, J: 6.93 Hz), 7.69-7.79 (m, 2H, **H5'**, **H6'**), 7.88 (dd, 1H, **H6**, J: 9,90 Hz, J: 1.97 Hz), 7.98-8.03 (m, 2H, **H2'**, **H4'**), 8.19 (d, 1H, **H8**, J: 1.97 Hz), 8.55 (d, 1H, **H2**, J: 6.93 Hz), 8.90 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 11.32 (sa, 1H, N-H).

RMN ¹³C δ 27.4 (CH₃), 101.6 (C3), 117.5, 122.8 (C8), 124.0, 126.2 (C5), 126.5 (C6), 127.2, 129.2, 130.7, 137.5, 138.7, 139.3, 143.3, 147.1, 152.7 (C2), 198.0 (C=O).

Intermediario 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)etanona, **3**



Rendimiento = 94,05 % pf = 209-211 °C. Literatura¹³³ = 209-210 °C.

IR ν_{\max} 3440 (NH); 1676 (C=O).

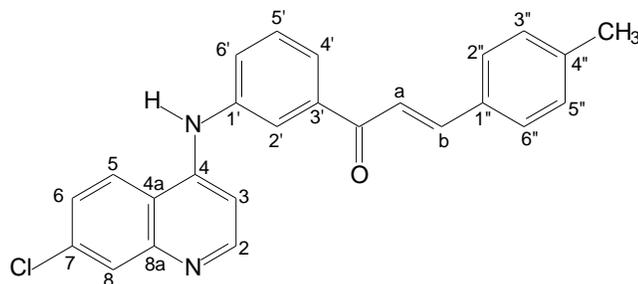
RMN ^1H δ 2.62 (s, 3H, **CH**₃), 7.04 (d, 1H, **H**₃, J: 6.93 Hz), 7.65 (d, 2H, **H**₂' , **H**₆' , J: 8.39 Hz), 7.88 (d, 1H, **H**₆, J: 9,15 Hz), 8.12 (d, 2H, **H**₃' , **H**₅' , J: 8.39 Hz), 8.21 (s, 1H, **H**₈), 8.60 (d, 1H, **H**₂, J: 6.93 Hz), 8.95 (d, 1H, **H**₅, J: 9,15 Hz), 11.37 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 27.3 (**CH**₃), 101.8 (**C**₃), 117.0, 120.0 (**C**₈), 125.0 (**C**₂' , **C**₆'), 127.0 (**C**₅), 128.1 (**C**₆), 130.5 (**C**₃' , **C**₅'), 135.5, 139.0, 139.9, 142.2, 144.4 (**C**₂), 154.7, 197.4 (**C**=O).

6.2.2. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (**4, 5**)

En un recipiente de vidrio con tapa a rosca de 10 mL provisto de agitación magnética se colocaron 150 mg (0,5054 mmoles, 1 equiv.) de 7-cloro-4-(3 o 4-acetilfenil) amino quinolina (**3** o **4**), el aldehído respectivo (0,5559 mmoles, 1,1 equiv.), una granalla de hidróxido de potasio y 8 mL de metanol, se agitó a temperatura ambiente por 96-120 horas, obteniéndose un sólido que fue lavado con agua y éter etílico y recristalizado en etanol.

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-*p*-tolilprop-2-en-1-ona, **4a**



Rendimiento = 46,38 % pf = 297-298 °C

IR ν_{\max} 3351 (NH); 1645 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 2.31 (s, 3H, CH_3), 6,98 (d, 1H, **H3**, J: 5.21 Hz), 7.23 (d, 2H, **H3''**, **H5''**, J: 7.91 Hz), 7.55-7.93 (m, 9H, **H6**, **H2'**, **H4'**, **H5'**, **H6'**, **Ha**, **Hb**, **H2''**, **H6''**), 8.03 (d, 1H, **H8**, J: 1,97), 8.41 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.48 (d, **H2**, J: 5,21), 9.26 (sa, 1H, **NH**).

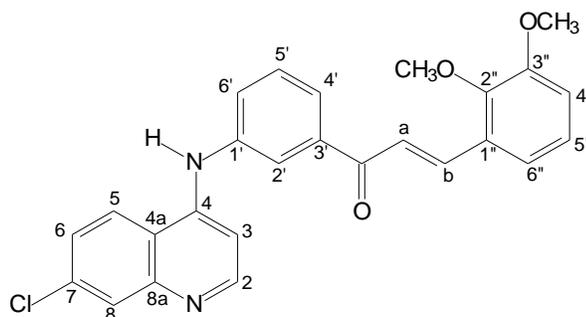
RMN ^{13}C δ 21.7 (CH_3), 102.8 (**C3**), 119.1 (**C6'**), 121.6, 122.4 (**C8**), 124.6, 125.0 (**C5**), 125.7 (**C6**), 127.1, 128.3, 129.6, 130.1, 130.5, 132.5, 134.6, 139.5, 141.4, 141.5, 144,0 (**Ca**), 148,1, 150,2 (**C2**), 152,6, 189.42 (**C=O**).

Anal. **C₂₅H₁₉ClN₂O** **PM = 398,8842**

calculado **C 75.28 %**, **H 4.80 %**, **N 7.02 %**

encontrado **C 75.43 %**, **H 4.84 %**, **N 7.25 %**

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,3-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4b**



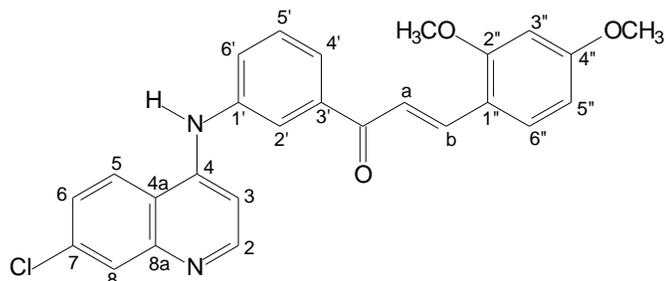
Rendimiento = 45,08 % pf = 129-131 °C

IR ν_{\max} 3350 (NH); 1647 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 7.02 (d, 1H, **H3**, J: 5.21 Hz), 7.14-7.16 (m, 2H, **H4''**, **H5''**), 7.58-7.66 (m, 4H, **H6**, **H5'**, **H6'**, **Hb**), 7.84-7.97 (m, H (**H2'**, **H4'**, **H6''**)), 7.98 (d, 1H, **Ha**, J: 15.83 Hz), 8.04 (d, 1H, **H8**, J: 1.97 Hz), 8.44 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.51 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.31 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.4 (OCH₃), 61.6 (OCH₃), 102.8 (**C3**), 115.7 (**C5''**), 119.0 (**C6'**), 119.8, 122.3 (**C8**), 123.5 (**C2'**), 124.5, 124.9 (**C4''**), 125.0 (**C5**), 125.8 (**C6**), 127.2, 128.3, 128.7, 130.5 (**C5'**), 134.6, 138.9, 139.40 (**Ca**), 141.5, 148.1, 148.9, 150.2, 152.6 (**C2**), 153.4, 189.6 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4c**



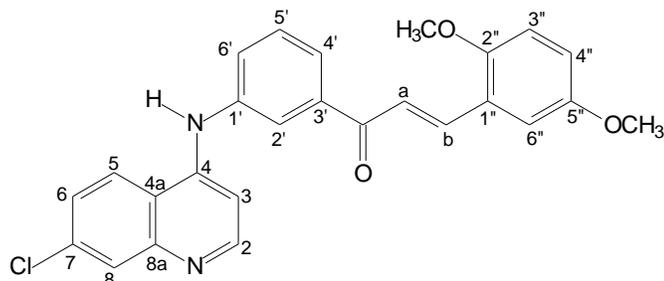
Rendimiento = 43,08 % pf = 129-131 °C

IR ν_{\max} 3355 (NH); 1660 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 6.65 (m, 2H, **H3''**, **H5''**), 7.03 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.59-7.65 (m, 3H, **H6**, **H5'**, **H6'**), 7.76 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.91-7.94 (m, 2H, **H2'**, **H4'**), 8.00 (d, 1H, **Ha**, 15,57 Hz), 8.02 (s, 1H, **H8**), 8.45 (d, 1H, **H5**, J: 8,90 Hz), 8.52 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.30 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.1 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 99.0 (**C5''**), 102.8 (**C3**), 107.0 (**C3''**), 116.5, 119.1 (**C6'**), 119.9, 122.2 (**C8**), 124,3, 125.0, 125.7 (**C5**), 126.7 (**C6**), 128.3, 130.4, 130.9 (**Cb**), 134.6, 139.7, 139.8 (**Ca**), 141.6, 148,1, 150,3, 152,6 (**C2**), 163.5, 189.5 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4d**



Rendimiento = 44,14 % pf = 205-206 °C

IR ν_{\max} 3424 (NH); 1658 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7,03-7.05 (m, 3H, **H3**, **H3''**, **H4''**), 7.55-7.70 (m, 4H, **H6**, **H5'**, **H6'**, **Hb**), 7.87-7.98 (m, 3H, **H2'**, **H4'**, **H6''**), 8.04 (s, 1H, **H8**), 8.06 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 8.44 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.51 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.32 (sa, 1H, NH).

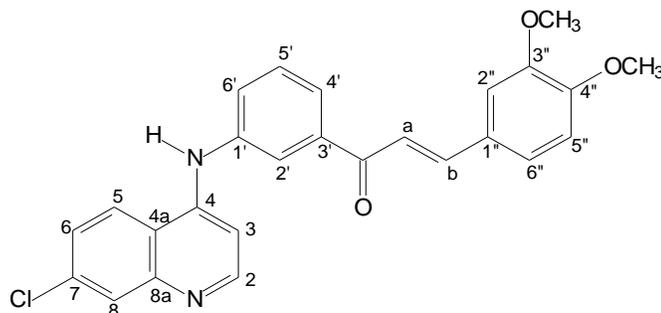
RMN ^{13}C δ 56.3 (OCH₃), 56.7, (OCH₃), 102.8 (**C3**), 113.3 (**C6'**), 113.6 (**C4''**), 118.8 (**C3''**), 119,1, 122.3 (**C8**), 122.6 (**C2'**), 124.0, 124.6, 125.0 (**C5**), 125.7 (**C6**), 127.0, 128.3, 130.5 (**Cb**), 134.6, 139.2, 139.5 (**Ca**), 141.5, 148.1, 150.2, 152.6 (**C2**), 153.3, 153.8, 189.6 (C=O).

Anal. **C**₂₆**H**₂₁**Cl****N**₂**O**₃ **PM** = 444,9095

calculado **C** 70.19 %, **H** 4.76 %, **N** 6.30 %

encontrado **C** 69.99 %, **H** 4.76 %, **N** 6.51 %

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,4-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4e**



Rendimiento = 41,30 % pf = 179-181 °C

IR ν_{\max} 3430 (NH); 1657 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7.02 (m, 2H, **H3**, **H2''**), 7.40 (d, 1H, **H6''**, J: 8,42 Hz), 7.53-7.69 (m, 4H, **H6**, **H5'**, **Hb**, **H5''**), 7.75-7.84 (m, 2H, **H4'**, **H6'**), 7.72 (d, 1H, **H2'**, J: 1,97 Hz), 7.77 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 8.03 (s, 1H, **H8**), 8.44 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.51 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.30 (sa, 1H, NH).

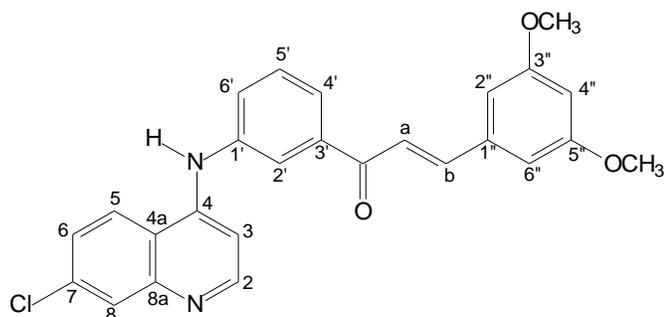
RMN ^{13}C δ 56.2 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 102.7 (**C3**), 111.4, 112.1, 119.0 (**C6'**), 120.2, 122.3 (**C8**), 124.6, 125.0 (**C5**), 125.8 (**C6**), 127.0, 128.0, 128.3, 130.4, 134.6, 139.7, (**Ca**) 141.4, 145.5, 148,1, 149,6, 150.2, 152.0 (**C2**), 152,6, 189,3 (**C=O**).

Anal. **C**₂₆**H**₂₁**Cl****N**₂**O**₃ **PM** = 444,9095

calculado **C** 70.19 %, **H** 4.76 %, **N** 6.30 %

encontrado **C** 70.43 %, **H** 4.83 %, **N** 6.35 %

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4f**



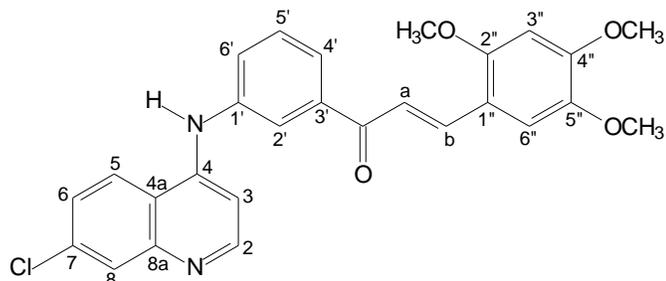
Rendimiento = 50,30 % pf = 200-201 °C

IR ν_{\max} 3360 (NH); 1645 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.80 (s, 6H, OCH₃), 6.59 (d, 1H, **H4''**, J: 1,97 Hz), 6.98 (d, 2H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.03 (d, 2H, **H2''**, **H6''**, J: 1,99 Hz), 7.54-7.67 (m, 3H, **H6**, **H5'**, **H6'**), 7.65 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.86-7.96 (m, 3H, **H2'**, **H4'**, **Ha**), 8.01 (s, 1H, **H8**), 8.39 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.46 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz). 9.26 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.0 (OCH₃), 56.1 (OCH₃), 103.5 (**C3**), 107.4, 119.1 (**C6'**), 122.4 (**C8**), 123.4, 124.6, 125.0 (**C5**), 125.7 (**C6**), 127.1, 128.2, 130.4, 134.6, 137.2, 139.6 (**Ca**), 141.6, 145.0, 148.2, 150.2, 152.6 (**C2**), 161.4, 189.7, (C=O).

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4g**



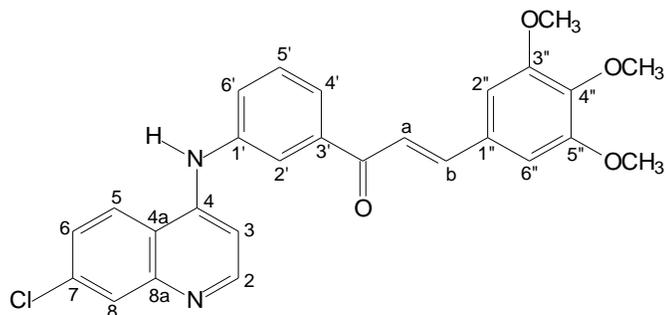
Rendimiento = 45,74 % pf = 108-110 °C

IR ν_{\max} 3360 (NH); 1655(C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 6,74 (s, 1H, **H3''**), 7.02 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.50 (s, 1H, **H6''**), 7.58-7,68 (m, 3H, **H6**, **H5'**, **H6'**), 7,75 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.92-7.95 (m, 2H, **H2'**, **H4'**), 8.00 (s, 1H, **H8**), 8.06 (1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 8.44 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.50 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.30 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.4, (OCH₃), 57.0, (OCH₃), 98.1, 102.8 (**C3**), 111.6, 114.8, 119.0, 122.2 (**C8**), 124.5, 125.0 (**C5**), 125.8, (**C6**) 126.8, 128.3, 130.4 (**Cb**), 134.6, 139.5, 140.0 (**Ca**), 141,4 143,7, 148,1, 150.2, 152.6 (**C2**), 153.6, 155.0, 189.4, (**C=O**).

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4h**



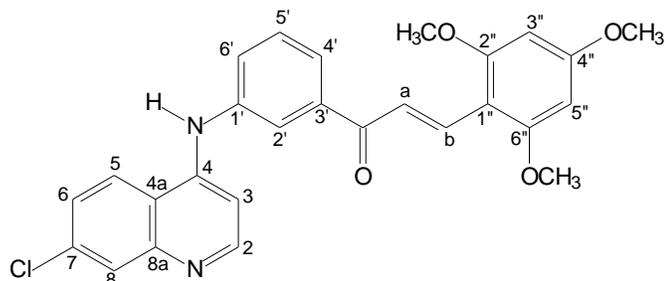
Rendimiento = 65,32 % pf = 250-251 °C

IR ν_{\max} 3360 (NH); 1660 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 6H, OCH₃), 7.03 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.23 (s, 2H, **H2''**, **H6''**), 7.58-7,67 (m, 3H, **H6**, **H5'**, **H6'**), 7.72 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.85-7.90 (m, 3H, **H2'**, **H4'**, **Ha**), 8,00 (s, 1H, **H8**), 8,44 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.50 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.32 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.7, (OCH₃), 60.7, (OCH₃), 102.8 (**C3**), 107.2, 119.0 (**C6'**), 121.9, 122.3 (**C8**), 124.7, 125.0 (**C5**), 125.8 (**C6**), 127.1, 128.3, 130.4, 130.7, 134.6, 139.6 (**Ca**), 140.4, 141.5, 145.4, 148.1, 150.2 (**C2**), 152.6, 153.7, 189.5, (C=O).

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4,6-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **4i**



Rendimiento = 40,30 % pf = 151-153 °C

IR ν_{\max} 3446 (NH); 1655 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 6H, OCH₃), 6,33 (s, 2H, **H3''**, **H5''**), 7.07 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.56-7,65 (m, 3H, **H6**, **H5'**, **H6'**), 7.72 (d, 1H, **H4'**, J: 7,15 Hz), 7.84 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7,92 (s, 2H, **H8**, **H2'**), 8,12 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz) 8.43 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.52 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.30 (sa, 1H, NH).

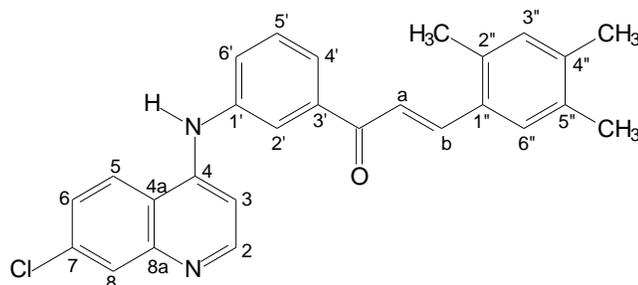
RMN ^{13}C δ 56.2 (OCH₃), 56.7 (OCH₃), 91.8, 103.0 (**C3**), 105.8, 119.2 (**C6'**), 121.2 (**C2'**), 121.7 (**C8**), 123.7 (**Cb**), 125.1 (**C5**), 125.7, 126.2 (**C6**), 128.32 (**Ca**), 130.4, 134.6, 136.1, 140.4 (**C2**), 141.5, 148.1, 150.2, 152.6 (**C2**), 162.1 (**C3''**, **C5''**), 164.1, 190.5, (C=O).

Anal. **C**₂₇**H**₂₃**Cl****N**₂**O**₄ **PM** = 474,9355

calculado **C** 68.28 %, **H** 4.88 %, **N** 5.90 %

encontrado **C** 68.32 %, **H** 4.97 %, **N** 6.17 %

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4,5-trimetilfenil)prop-2-en-1-ona, **4j**



Rendimiento = 55,03 % pf = 216-217 °C

IR ν_{\max} 3448 (NH); 1648 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 2.21 (s, 3H, **CH₃**), 2.23 (s, 3H, **CH₃**), 2.37 (s, 3H, **CH₃**), 7.02 (d, 1H, **H₃**, J: 5,21 Hz), 7.06 (s, 1H, **H_{3''}**), 7.60-7.81 (m, 5H, **H₆**, **H_{4'}**, **H_{5'}**, **H_{6'}**, **H_b**), 7.92-8.01 (m, 4H, **H_{2'}**, **H_{5'}**, **H_a**, **H_{6''}**), 8.05 (s, 1H, **H₈**), 8.45 (d, 1H, **H₅**, J: 9,15 Hz), 8.51 (d, 1H, **H₂**, J: 5,21 Hz), 9.32 (sa, 1H, **NH**).

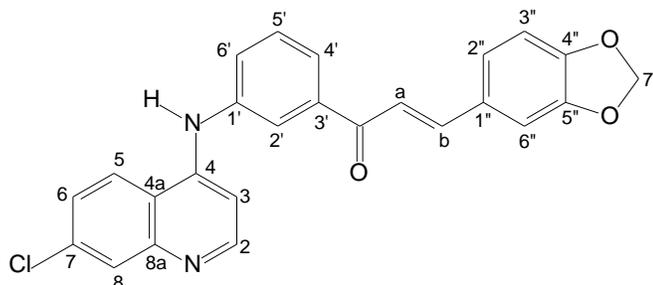
RMN ^{13}C δ 19.2, (**CH₃**), 19.4, (**CH₃**), 19.9, (**CH₃**), 102.8 (**C₃**), 119.1, 121.8, 122.3 (**C₈**), 124.5, 125.0 (**C₅**), 125.7(**C₆**), 127.0, 128.2, 128.3, 130.4, 131.0, 132.6, 134.6, 134.8, 136.2, 139.6, 140.0 (**Ca**), 141.5, 142.0, 148.1, 150.2 (**C₂**), 152.6, 189.3, (**C=O**).

Anal. **C₂₇H₂₃ClN₂O** **PM = 426,9373**

calculado **C 75.96 %**, **H 5.43 %**, **N 6.55 %**

encontrado **C 76.04 %**, **H 5.48 %**, **N 6.74 %**

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(benzo[d][1,3]dioxol-6-il)prop-2-en-1-ona, **4k**



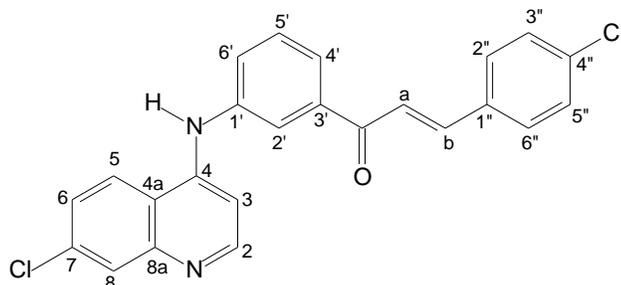
Rendimiento = 45,0 % pf = 181-183 °C

IR ν_{\max} 3434 (NH); 1660 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 6,09 (s, 2H, **H7''**), 6.97-7.00 (m, 2H, **H3**, **H3''**), 7.32 (d, 1H, **H2''**, J: 7,91 Hz), 7.58-7.65 (m, 4H, **H6**, **H5'**, **H6'**, **Hb**), 7.72 (s, 1H, **H6''**), 7.80 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 7.92 (m, 2H, **H2'**, **H4'**), 8,05 (s, 1H, **H8**), 8,43 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.52 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.30 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 102.2 (**C7''**), 102.7 (**C3**), 107.5, 109.1 (**C3''**), 118.9, 120.5, 122.5 (**C8**), 124.6, 125.0, 125.7 (**C5**), 126.7 (**C2''**), 127.2 (**C6''**), 128.2, 129.7, 130.5, 134.6, 139.6, 141.4, 145.0 (**Ca**), 148.3, 148.7, 150.1, 150.2, 152.6 (**C2**), 189.3, (**C=O**).

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-*p*-clorofenilprop-2-en-1-ona, **4l**



Rendimiento = 72,0 % pf = 204-205 °C

IR ν_{\max} 3426 (NH); 1650 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 7,01 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.50 (d, 2H, **H3''**, **H5''**, J: 8,39 Hz), 7.58-7,97 (m, 9H, **H6**, **H2'**, **H4'**, **H5'**, **H6'**, **Ha**, **Hb**, **H2''**, **H6''**), 8,07 (s, 1H, **H8**), 8.43 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.51 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.27 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 102.8 (**C3**), 119.0 (**C6'**), 122.4 (**C8**), 123.3, 124.7, 125.0 (**C5**), 125.7 (**C6**), 127.2, 128.2, 129.5, 130.5, 131.2, 134.1, 134.5, 135.7, 139.3 (**Ca**), 141.5, 143.4, 148,0, 150.3, 152.6 (**C2**), 189.4, (**C=O**).

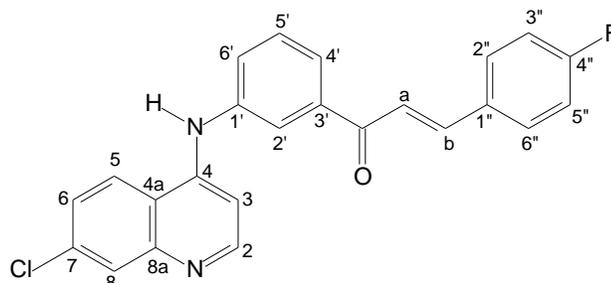
Anal. **C₂₄H₁₆Cl₂N₂O** **PM = 419,3026**

calculado **C 68.75 %**, **H 3.85 %**, **N 6.68 %**

encontrado **C 68.83 %**, **H 3.89 %**, **N 6.85 %**

Derivado (*E*)-1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-*p*-fluorofenilprop-2-en-1-ona,

4m



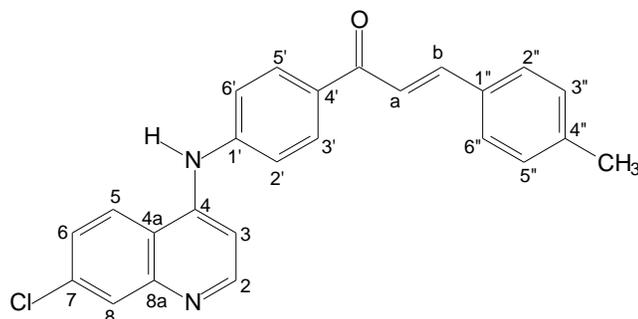
Rendimiento = 52,01 % pf = 184-185 °C

IR ν_{\max} 3435 (NH); 1658 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 7.01 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.30 (t, 2H, **H3''**, **H5''**, J: 8,64 Hz, J: 8,92 Hz), 7.58-7.66 (m, 3H, **H6**, **H5'**, **H6'**), 7.74 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.87 (s, 1H, **H2'**), 7.91-8.00 (m, 4H, **H2''**, **H6''**, **H4'**, **Ha**), 8.06 (s, 1H, **H8**), 8.43 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.50 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.30 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 102.8 (**C3**), 116.4, 116.7, 119.0 (**C6'**), 122.5 (**C8**), 124.7, 125.0 (**C5**), 125.7 (**C6**), 127.3, 128.3, 130.5, 131.8, 131.9, 134.6, 139.4 (**Ca**), 141.5, 143.6, 148.1, 150.1, 152.6 (**C2**), 161.3., 189,4 (**C=O**).

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-*p*-tolilprop-2-en-1-ona, **5a**



Rendimiento = 48,30 % pf = 239-241 °C

IR ν_{\max} 3440 (NH); 1664 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 2.35 (s, 3H, **CH₃**), 7.27 (d, 2H, **H3''**, **H5''**, J: 8,15 Hz), 7.31 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.49 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.61 (dd, 1H, **H6**, J: 2,24, J: 9,15 Hz), 7.70 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.78 (d, 2H, **H2''**, **H6''**, J: 8,15 Hz), 7.92 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 7.97 (d, 1H, **H8**, J: 2,24 Hz), 8.20 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8.39 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.50 (sa, 1H, NH).

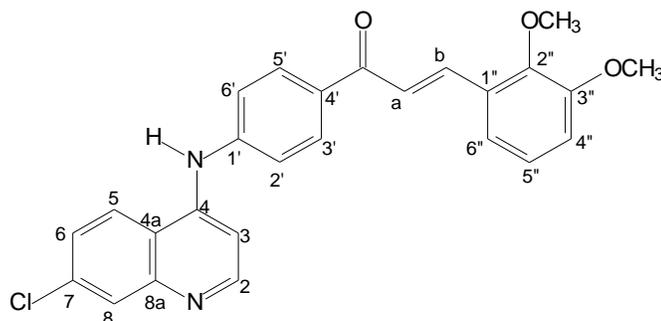
RMN ^{13}C δ 21.7 (**CH₃**), 105.7 (**C3**), 119.7, 119.9 (**C2'**, **C6'**), 121.5 (**C4**), 125.3 (**C5**), 126.2 (**C6**), 128.4 (**C8**), 129.4, 130.1 (**C3'**, **C5'**), 131.0, 132.2, 132.7 (**Ca**), 134.8, 141.1, 143.9, 146.3, 146.6, 150.2, 152,7 (**C2**), 187,7 (**C=O**).

Anal. **C₂₅H₁₉ClN₂O** **PM = 398,8842**

calculado **C 75.28 %**, **H 4.80 %**, **N 7.02 %**

encontrado **C 75.31 %**, **H 4.78 %**, **N 7.07 %**

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,3-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5b**



Rendimiento = 48,30 % pf = 194-196 °C

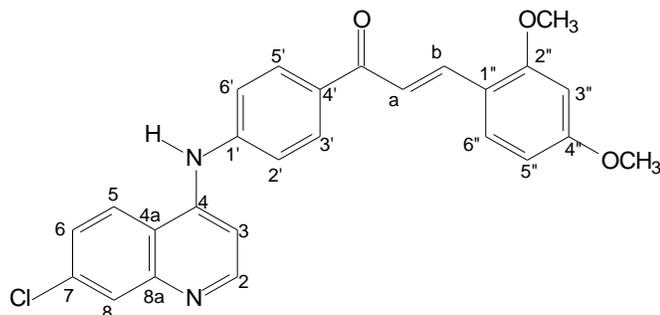
IR ν_{\max} 3426 (NH); 1660 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 7,15 (m, 2H, **H4''**, **H5''**), 7.31 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.49 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.60-7.64 (m, 2H, **H6**, **Hb**), 7.94-7.96 (m, 3H, **H8**, **Ha**, **H6''**), 8.19 (d, 2H, **H3'**, **H5'** J: 8,67 Hz), 8.39 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.50 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.4 (OCH₃), 61.6 (OCH₃), 105.8 (**C3**), 115.4 (**C5'**), 119.7, 119.8, 119.9 (**C2'**, **C6'**), 123.4 (**C8**), 124.9 (**C4'**), 125.3 (**C5**), 126.2 (**C6**), 128.3 (**C6''**), 128.9, 131.0 (**C3'**, **C5'**), 132.1, 134.9, 137.8 (**Ca**), 146.4, 146.5, 148.8, 150.2, 152.7 (**C2**), 153,3, 187,8 (C=O).

Anal. **C**₂₆**H**₂₁**Cl****N**₂**O**₃ **PM** = 444,9095
 calculado **C** 70.19 %, **H** 4.76 %, **N** 6.30 %
 encontrado **C** 70.47 %, **H** 4.91 %, **N** 6.63 %

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5c**



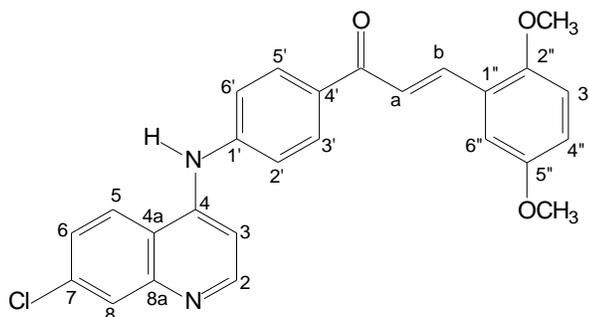
Rendimiento = 55,30 % pf = 215-217 °C

IR ν_{\max} 3434 (NH); 1660 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6,61 (m, 2H, **H3''**, **H5''**), 7.30 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.48 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.62 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15, J: 1,97 Hz), 7.78 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.91 (d, 1H, **H6''**, J: 8,40 Hz), 7.96-8,02 (m, 2H, **H8**, **Ha**), 8.15 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8.67 Hz), 8.40 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.61 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.46 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.1 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 99.0 (**C6''**), 105.6 (**C3**), 107.0 (**C5''**), 116.8, 119.8, 120.0 (**C2'**, **C6'**), 125.3 (**C5**) 126.0 (**C6**), 128.4, (**C8**), 130.7 (**C3'**, **C5'**), 132.8 (**C3''**), 134.8, 138.7 (**Ca**), 146.0, 146.8, 150.3, 152,6 (**C2**), 160.5, 163.4, 188,0 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5d**



Rendimiento = 50,30 % pf = 178-180 °C

IR ν_{\max} 3448 (NH); 1657 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7.04 (m, 2H, **H3''**, **H4''**), 7.32 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.49 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.56 (d, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.64 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15, J: 1,97 Hz), 7.90-8.07 (m, **H8**, **Ha**, **H6''**), 8.20 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8.67 Hz), 8.40 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.52 (sa, 1H, NH).

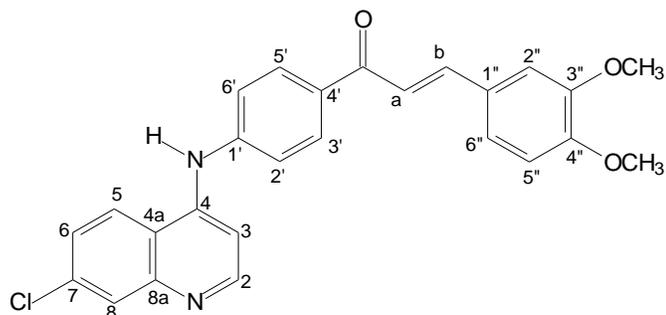
RMN ^{13}C δ 56.2 (OCH₃), 56.7 (OCH₃), 105.7 (**C3**), 113.0, 113.6 (**C3''**), 118.5 (**C4''**), 119.7, 119.9 (**C2'**, **C6'**), 122.5 (**C8**), 124.2, 125.6 (**C5**), 126.1 (**C6**), 128.4 (**C6''**), 131.0 (**C3'**, **C5'**), 132.2, 134.7, 138.1, 146.3, 146.6, 150.2, 152.6 (**C2**), 153.2, 153.8, 187.8 (C=O).

Anal. **C**₂₆**H**₂₁**Cl****N**₂**O**₃ **PM** = 444,9095

calculado **C** 70.19 %, **H** 4.76 %, **N** 6.30 %

encontrado **C** 70.22 %, **H** 4.78 %, **N** 6.61 %

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,4-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5e**



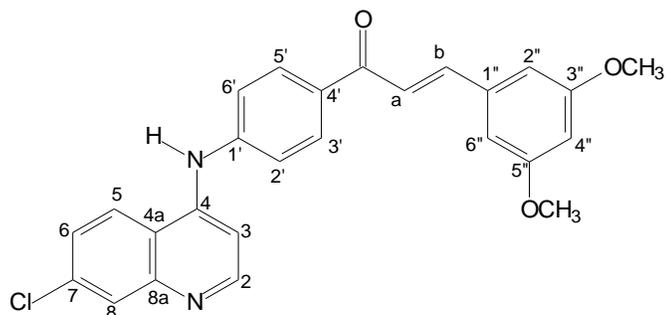
Rendimiento = 45,80 % pf = 204-205 °C

IR ν_{\max} 3424 (NH); 1645 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.02 (d, 1H, **H5''**, J: 8,67 Hz), 7.31 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.38 (d, 1H, **H6''**, J: 8,67 Hz), 7.49 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.54 (s, 1H, **H2''**), 7.64 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.68 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.87 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 7.96 (s, 1H, **H8**), 8.21 (d, 2H, **H3'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 8.41 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.52 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.2 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 105.3 (**C3**), 111.1, 112.1, 119.8 (**C2'**, **C6'**), 121.0, 124.4 (**C8**), 125.3 (**C5**), 126.1 (**C6**), 128.2, 128.3 (**Ca**), 130.9 (**C3'**, **C5'**), 132.5, 134.7, 144.3 (**Cb**), 146.7, 149.6, 150.2, 151.7, 152.2 (**C2**), 152.4, 187.5 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5f**



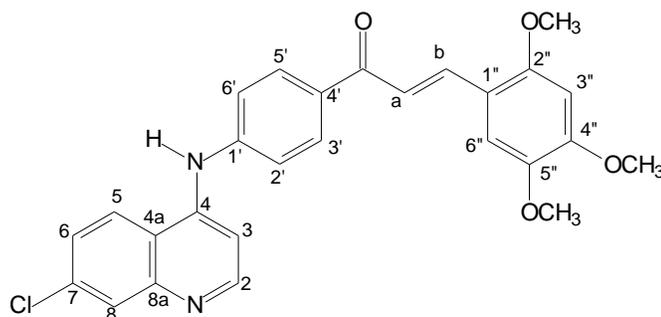
Rendimiento = 46,50 % pf = 129-131 °C

IR ν_{\max} 3424 (NH); 1649 (C=O α,β -insaturada); 1593

RMN ^1H δ 3.81 (s, 6H, OCH₃), 6.58 (s, 1H, **H4''**), 7.07 (d, 2H, **H2''**, **H6''**, J: 1,97 Hz), 7.32 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.49 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.61-7.68 (m, 2H, **H6**, **Hb**), 7.97 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 7.98 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.23 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8.40 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.63 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.51 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.0 (2OCH₃), 103.4 (**C4''**), 105.9 (**C3**), 107.3 (**C2''**, **C6''**), 119.7 (**C2'**, **C6'**), 120.0, 123.2 (**C8**), 125.3 (**C5**), 126.1 (**C6**), 128.4 (**Ca**), 131.1 (**C3'**, **C5'**), 132.2, 134.9, 137.4, 143.8 (**Cb**), 146.5, 146.6, 150.3, 152.6 (**C2**), 161,4, 187,8 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5g**



Rendimiento = 79,50 % pf = 120-121 °C

IR ν_{\max} 3436 (NH); 1658 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6.75 (s, 1H, **H3''**), 7.31 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.48-7.53 (m, 3H, **H2'**, **H6'**, **H6''**), 7.63 (d, 1H, **H6**, J: 9.15 Hz), 7.80 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.97 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.06 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 8.20 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8.41 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.49 (sa, 1H, NH).

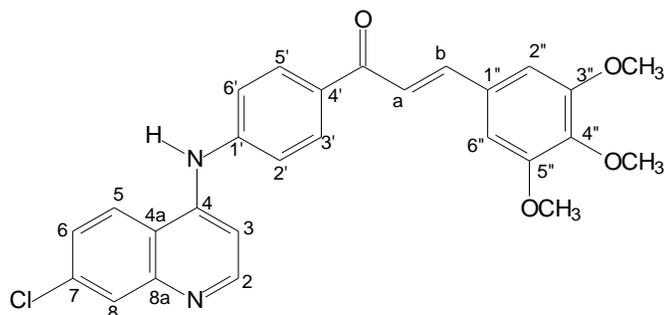
RMN ^{13}C δ 56.4 (OCH₃), 56.9 (OCH₃), 57.0, (OCH₃), 98.2, 105.4 (**C3**), 111.3, 114.9, 119.1, (**C8**), 119.9 (**C2'**, **C6'**), 125.3 (**C5**), 126.0 (**C6**), 128.2 (**Ca**), 130.8 (**C3'**, **C5'**), 132.7, 134.9, 138.3, 143.7 (**Cb**), 146.0, 146,7, 150.2, 152.6 (**C2**), 153,3, 154,8, 187.7 (C=O).

Anal. **C**₂₇**H**₂₃**Cl****N**₂**O**₄ **PM** = 474,9355

calculado **C** 68.28 %, **H** 4.88 %, **N** 5.90 %

encontrado **C** 68.40 %, **H** 5.01 %, **N** 6.13 %

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, **5h**



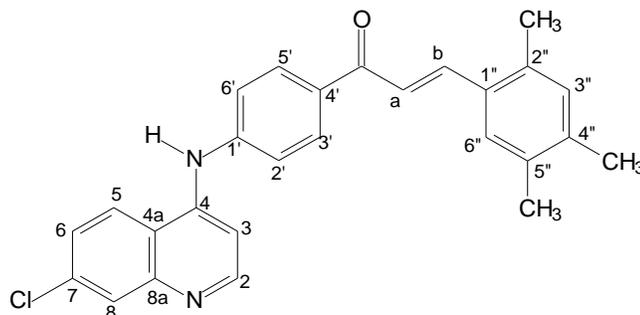
Rendimiento = 52,69 % pf = 116-118 °C

IR ν_{\max} 3424 (NH); 1668 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 6H, OCH₃), 7.23 (s, 2H, **H2''**, **H6''**), 7.31 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.50 (d, 2H, **H2'**, **H6'** J: 8,67 Hz), 7.62 (dd, 1H, **H6**, J: 9.15 Hz), 7.68 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.92 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 7.96 (s, 1H, **H8**), 8.23 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8.40 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.56 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 56.7 (2OCH₃), 60.7 (OCH₃), 105.7 (**C3**), 107.0, 119.7, 119.9 (**C2'**, **C6'**), 121.7, 125.3 (**C5**), 126.1 (**C6**), 128.3 (**C8**), 131.0 (**C3'**, **C5'**), 131.1, 132.2, 134.8, 140.2, 144,3, 146,4, 146.7 150.2, 152.5 (**C2**), 153,7 (**C2''**, **C6''**), 187.7 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,4,5-trimetilfenil)prop-2-en-1-ona, **5j**



Rendimiento = 52,50 % pf = 228-230 °C

IR ν_{\max} 3420 (NH); 1645 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 2.22 (s, 3H, CH_3), 2.37 (s, 3H, CH_3), 2.49 (s, 3H, CH_3), 7.05 (s, 1H, $\text{H}3''$), 7.31 (d, 1H, $\text{H}3$, J: 5,21 Hz), 7.50 (d, 2H, $\text{H}2'$, $\text{H}6'$, J: 8,67 Hz), 7.63 (d, 2H, $\text{H}6$, J: 9,15 Hz), 7.79-7.85 (m, 2H, $\text{H}b$, $\text{H}6''$), 7.92-7.97 (m, 2H, $\text{H}8$, $\text{H}a$), 8.20 (d, 2H, $\text{H}3'$, $\text{H}5'$, J: 8,67 Hz), 8.40 (d, 1H, $\text{H}5$, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, $\text{H}2$, J: 5.21 Hz), 9.51 (sa, 1H, NH).

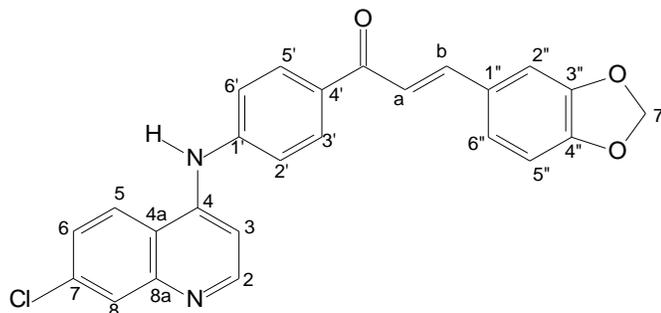
RMN ^{13}C δ 19.3, (CH_3), 19.4, (CH_3), 19.9, (CH_3), 105.7 ($\text{C}3$), 119.8 ($\text{C}2'$, $\text{C}6'$), 119.9, 121.8, 125.2 ($\text{C}5$), 126.1 ($\text{C}6$), 128.2, 128.3, 128.4, 131.0 ($\text{C}3'$, $\text{C}5'$), 131.2, 132.2, 132.5, 134.8, 135.9, 139.7, 140.8, 146.3, 146.6, 150.1, 152.8 ($\text{C}2$), 187.7 ($\text{C}=\text{O}$).

Anal. $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}$ PM = 426,9373

calculado C 75.96 %, H 5.43 %, N 6.55 %

encontrado C 75.98 %, H 5.60 %, N 6.68 %

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(benzo[d][1,3]dioxol-6-il)prop-2-en-1-ona, **5k**



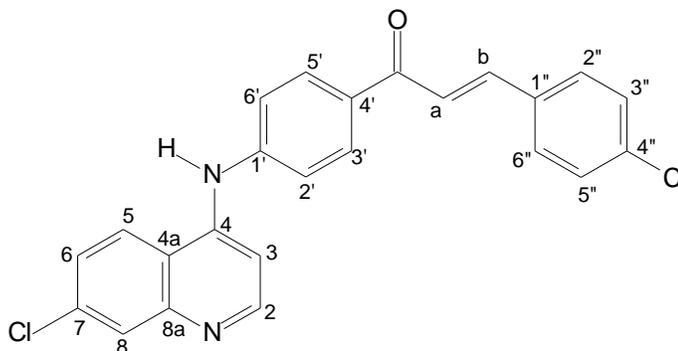
Rendimiento = 51,60 % pf = 190-191 °C

IR ν_{\max} 3470 (NH); 1650 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 6.12 (s, 2H, **H7**), 7.00 (d, 1H, **H3**, J: 9.,15 Hz), 7.30-7.35 (m, 2H, **H5''**, **H6''**), 7.49 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.63-7.70 (m, 3H, **H6**, **Hb**, **H2''**), 7.86 (d, 1H, **Ha**, J: 15,57 Hz), 7.98 (d, 1H, **H8**, J: 1.97 Hz), 8.21 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8.40 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.63 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.51 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 102.2, (**CH₂**), 105.6 (**C3**), 107.5, 109.1, 119.8 (**C2'**, **C6'**), 120.0, 121.0 (**C8**), 125.3, (**C5**) 126.1 (**C6**), 126.3, 128.3 (**Ca**), 129.9, 131.0 (**C3'**, **C5'**), 132.3, 134.8, 143.8 (**Cb**), 146.4, 146,7, 148,7, 150.0, 150,2 (**C2**), 152,6, 187.6 (C=O).

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-*p*-clorofenilprop-2-en-1-ona, **5l**



Rendimiento = 49,50 % pf = 120-121 °C

IR ν_{\max} 3424 (NH); 1654 (C=O α,β -insaturada).

RMN ^1H δ 7.30 (d, 1H, **H3**, J: 9.,15 Hz), 7.47-7.53 (m, 4H, **H2'**, **H6'**, **H3''**, **H5''**), 7.62 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15, J: 1;97 Hz), 7.70 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.90-8.01 (m, 4H, **H8**, **Ha**, **H2''**, **H6''**), 8.20 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8.39 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.62 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.50 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 105.7 (**C3**), 119.6, 119.9 (**C2'**, **C6'**), 121.7 (**C8**), 125.3 (**C5**), 126.2 (**C6**), 128.3 (**Ca**), 129.7 (**C2''**, **C6''**), 131.1 (**C3'**, **C5'**), 131.2, 132.0, 133.8, 134.2, 134.4, 134.8, 135.5, 142.0, 142.3 (**Cb**), 146.5, 152.5 (**C2**), 187.5 (C=O).

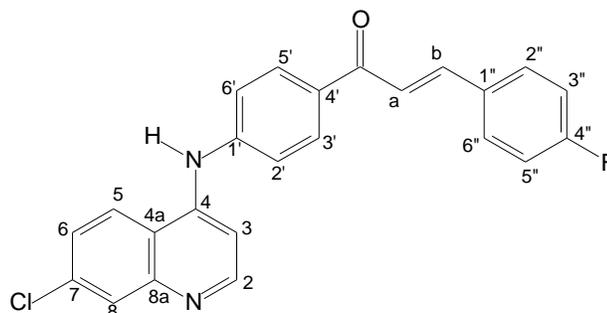
Anal. **C₂₄H₁₆Cl₂N₂O** **PM = 419,3026**

calculado **C 68.75 %**, **H 3.85 %**, **N 6.68 %**

encontrado **C 68.91 %**, **H 3.86 %**, **N 6.91 %**

Derivado (*E*)-1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-*p*-fluorofenilprop-2-en-1-ona,

5m



Rendimiento = 69,50 % pf = 217-219 °C

IR ν_{\max} 3430 (NH); 1658 (C=O α,β -insaturada).

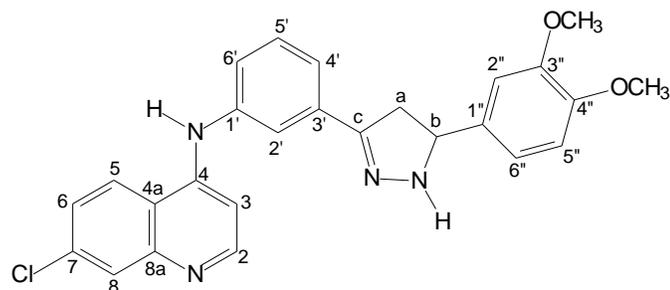
RMN ^1H δ 7.27-7.33 (m, 3H, **H3**, **H3''**, **H5''**), 7.48 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.63 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15, J: 1;97 Hz), 7.73 (d, 1H, **Hb**, J: 15,57 Hz), 7.91-7.99 (m, 3H, **Ha**, **H2''**, **H6''**), 8,00 (d, 1H, **H8**, J: 197 Hz), 8,21 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 8,39 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8,63 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.50 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 105.8 (**C3**), 116.3, 116.6, 119.7 (**C2'**, **C6'**), 120.0, 122.5 (**C8**), 125.3 (**C5**), 126.2 (**C6**), 128.4 (**Ca**), 131.0 (**C3'**, **C5'**), 131.6, 131.8, 132.0, 134.8, 142.6 (**Cb**), 146.4, 146.6, 150,2 (**C2**), 152,7, 187.7 (C=O).

6.2.3. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituidos)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** y **7**)

En un balón fondo redondo de 50 mL provisto de un refrigerante, agitación magnética y calentamiento, se colocaron 100 mg del derivado 4-aminoquinolinilchalcona respectivo, hidrazina monohidratada, 1mL, ácido acético glacial, cantidades catalíticas y 5 mL de etanol seco, bajo condiciones de reflujo entre 80-85 °C por 24 horas, obteniéndose un sólido que fue lavado con agua, éter etílico y secado al vacío.

Derivado 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(3,4-dimetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **6e**



Rendimiento = 79,50 % pf = 180-110 °C

IR ν_{\max} 3268 (NH).

RMN ^1H δ 2.85 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.32-3.45 (m, 1H, **Ha**), 3.72 (OCH₃), 3.74 (OCH₃), 4.79 (td, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz, J: 2,79 Hz), 6.89-6.94 (m, 4H, **H3**, **H2''**, **H5''**, **H6''**), 7.30-7.42 (m, 3H, **H4'**, **H5'**, **H6'**), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9, 15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.64 (s, 1H, **H2'**), 7.90 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.47 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.15 (sa, 1H, NH).

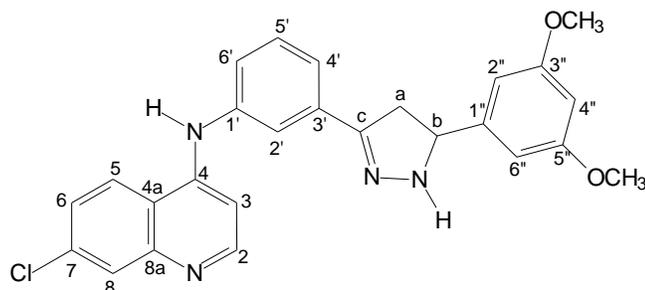
RMN ^{13}C δ 41.0 (**Ca**), 56.1 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 64.2 (**Cb**), 102.6 (**C3**), 111.3, 112.6, 119.2, 119.6, 121.8, 122.6, 125.0 (**C5**), 125.5 (**C6**), 128.3 (**C8**), 129.7, 130.1, 134.5, 135.3, 135.9, 141.0, 148.5, 148.7, 148.9, 149.4, 150.2, 152.5 (**C2**).

Anal. **C**₂₆**H**₂₃**Cl****N**₄**O**₂ **PM** = 458,9394

calculado **C** 68.04 %, **H** 5.05 %, **N** 12.21 %

encontrado **C** 67.93 %, **H** 5.08 %, **N** 12.50 %

Derivado 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(3,5-dimetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **6f**



Rendimiento = 78,25 % pf = 119-121 °C

IR ν_{\max} 3235 (NH).

RMN ^1H δ 2.84 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.35 (m, 1H, **Ha**), 3.37 (s, 6H, OCH₃), 4.79 (td, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz, 2,79 Hz), 6.39 (t, 1H, **H4''**, J: 1,97 Hz), 6.55 (d, 2H, **H2''**, **H6''**, J: 1,97 Hz), 6.96 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.30-7.45 (m, 3H, **H4'**, **H5'**, **H6'**), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.63 (s, 1H, **H2'**), 7.90 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.43 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.47 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.16 (sa, 1H, NH).

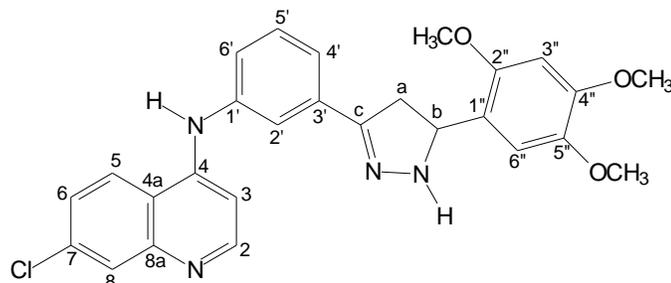
RMN ^{13}C δ 41.0 (**Ca**), 55.7 (2OCH₃), 64.3 (**Cb**), 99.5 (**C4''**), 102.7 (**C3**), 105.2 (**C2''**, **C6''**), 119.0, 119.7 (**C2'**), 121.7, 122.6, 125.0 (**C5**), 125.5 (**C6**), 128.2 (**C8**), 130.1, 134.5, 135.2, 141.0, 146.0, 148.5, 148.8, 150.2, 152.5 (**C2**), 161.1.

Anal. **C**₂₆**H**₂₃**Cl****N**₄**O**₂ **PM** = 458,9394

calculado **C** 68.04 %, **H** 5.05 %, **N** 12.21 %

encontrado **C** 67.97 %, **H** 5.10 %, **N** 12.48 %

Derivado 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(2,4,5-timetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **6g**



Rendimiento = 71,02 % pf = 116-118 °C

IR ν_{\max} 3216 (NH).

RMN ^1H δ 2.69 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.38 (m, 1H, **Ha**), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.99 (td, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz, 2,79 Hz), 6.69 (s, 1H, **H6''**) 6.96 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 6.99 (s, 1H, **H3''**), 7.29-7,46 (m, 4H, **H4'**, **H5'**, **H6'**), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.62 (s, 1H, **H2'**), 7.89 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.47 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.14 (sa, 1H, NH).

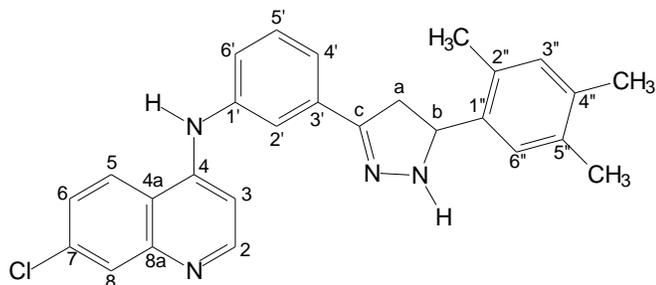
RMN ^{13}C δ 40.0 (**Ca**), 56.6 (OCH₃), 57.0 (OCH₃), 57.0 (OCH₃), 57.2 (**Cb**), 99.5 (**C6''**), 102.6 (**C3**), 112.6 (**C3''**), 119.0, 119.7 (**C2'**), 121.7, 122.5, 122.7, 125.0 (**C5**), 125.5 (**C6**), 128.1 (**C8**), 130.0, 134.5, 135.3, 141.0, 143.3, 148.6, 149.0, 149.4, 150.1, 151.6, 152.4 (**C2**).

Anal. **C₂₇H₂₅ClN₄O₃** **PM = 488,9654**

calculado **C 66.32 %**, **H 5.15 %**, **N 11.46 %**

encontrado **C 66.37 %**, **H 5.16 %**, **N 11.73 %**

Derivado 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(2,4,5-trimetilfenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **6j**



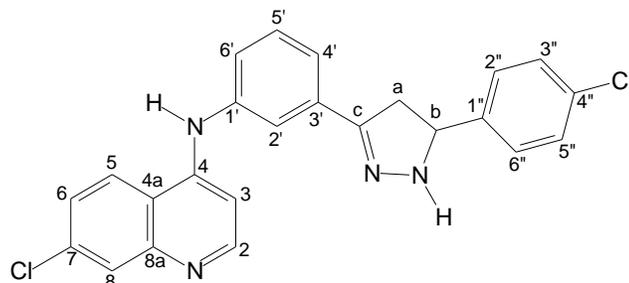
Rendimiento = 67,20 % pf = 197-199 °C

IR ν_{\max} 3245 (NH).

RMN ^1H δ 2.14 (2CH₃), 2.32 (CH₃), 2.67 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.47 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 4.94 (td, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz, J: 2,79 Hz), 6.92 (s, 1H, **H3''**), 6.95 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.18 (s, 1H, **H6''**), 7.29-7,44 (m, 2H, **H5'**, **H6'**), 7.51 (d, 1H, **H4'**, J: 2,24 Hz), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.63 (s, 1H, **H2'**), 7.89 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.47 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.14 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 18.9 (CH₃), 19.3 (CH₃), 19.6 (CH₃), 40.0 (**Ca**), 61.0 (**Cb**), 102.5 (**C3**), 118.9, 119.8 (**C2'**), 121.8 (**C5'**), 122.6 (**C6'**), 125.0 (**C5**), 125.6 (**C6**), 127.5 (**C6''**), 128.0 (**C8**), 130.1, 132.1 (**C3''**), 132.6, 133.8, 134.6, 134.9, 135.4, 138.6, 140.9, 148.2, 148.7, 149.8, 152.2 (**C2**).

Derivado 7-cloro-*N*-(3-(4,5-dihidro-5-(*p*-clorofenil)-1H-pirazol-3-il)fenil) quinolin-4-
amina, **6I**



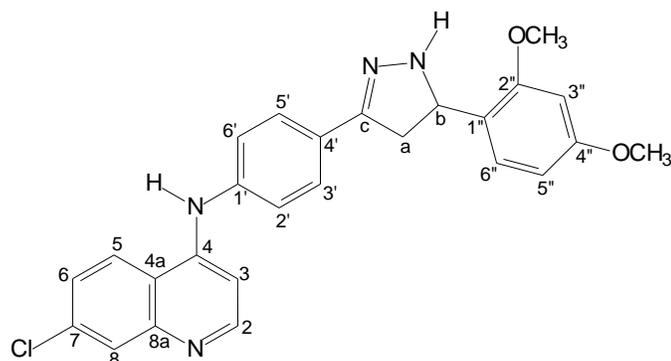
Rendimiento = 71,80 % pf = 118-120 °C

IR ν_{\max} 3325 (NH).

RMN ^1H δ 2.83 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.42 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 4.86 (td, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz, 2,79 Hz), 6.96 (d, 1H, **H3**, J: 5,21 Hz), 7.30-7.45 (m, 7H, **H4'**, **H5'**, **H6'**, **H2''**, **H6''**, **H3''**, **H5''**), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.63 (s, 1H, NH), 7.69 (d, 1H, **H2'**, J: 2,97 Hz), 7.89 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.47 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.15 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 40.4 (**Ca**), 63.5 (**Cb**), 102.3 (**C3**), 118.9, 119.8, 121.9, 122.6, 125.0 (**C5**), 125.6 (**C6**), 127.9, 128.9 (**C8**), 129.0, 129.8, 130.1, 134.7, 135.0, 141.0, 142.6, 148.8, 149.8, 152.1 (**C2**).

Derivado 7-cloro-*N*-(4-(4,5-dihidro-5-(2,4-dimetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **7c**



Rendimiento = 75,02 % pf = 160-162 °C

IR ν_{\max} 3345 (NH).

RMN ^1H δ 2.70 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.35 (m, 1H, **Ha**), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 5.00 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 6.32 (sa, 1H, NH), 6.50 (dd, 1H, **H5''**, J: 8.39, J: 2,24 Hz), 6.57 (d, 1H, **H6''**, J: 2,24 Hz), 6.94 (d, 1H, **H3**, J: 5,18 Hz), 7.23-7.36 (m, 3H, **H6**, **H2'**, **H6'**), 7.55-7.68 (m, 3H, **H3**, **H3'**, **H5'**), 7.90 (s, 1H, **H8**), 8.41 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.47 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.11 (sa, 1H, NH).

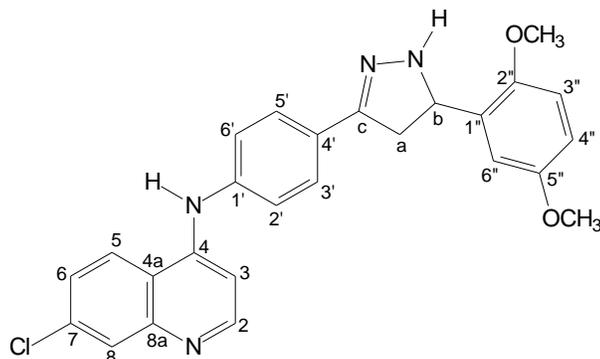
RMN ^{13}C δ 39.7 (**Ca**), 55.7 (OCH₃), 56.1 (OCH₃), 58.1 (**Cb**), 99.0, 102.6 (**C3**), 118.9, 122.5 (**C2'**, **C6'**), 122.6, 125.0 (**C5**), 125.5 (**C6**), 126.3 (**C3'**, **C5'**), 126.9, 127.9, 134.7, 136.2, 132.8, 139.8, 142.5, 150.1, 152.4 (**C2**).

Anal. **C**₂₆**H**₂₃**Cl****N**₄**O**₂ **PM** = 458,9394

calculado **C** 68.04 %, **H** 5.05 %, **N** 12.21 %

encontrado **C** 68.22 %, **H** 5.05 %, **N** 12.37 %

Derivado 7-cloro-*N*-(4-(4,5-dihidro-5-(2,5-dimetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **7d**



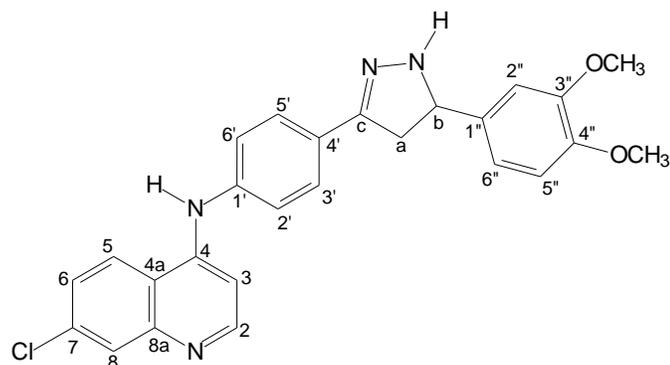
Rendimiento = 74,30 % pf = 192-193 °C

IR ν_{\max} 3280 (NH).

RMN ^1H δ 2.72 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.37 (m, 1H, **Ha**), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 5.00 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 6.79 (dd, 1H, **H4''**, J: 8,39Hz, J: 2,21 Hz), 6.91-7.02 (m, 3H, **H3**, **H3''**, **H6''**), 7.35 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.57 (d, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz), 7.65 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 7.90 (s, 1H, **H8**), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.48 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.19 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 40.0 (**Ca**), 55.9 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 58.4 (**Cb**), 103.0 (**C3**), 112.5, 112.7, 113.4, 119.1, 122.5 (**C2'**, **C6'**), 125.1 (**C5**), 125.6 (**C6**), 127.1 (**C3'**, **C5'**), 128.0 (**C8**), 129.5, 132.6, 134.6, 140.7, 148.3, 149.0, 149.9, 151.3, 152.3 (**C2**), 153.8.

Derivado 7-cloro-*N*-(4-(4,5-dihidro-5-(3,4-dimetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **7e**



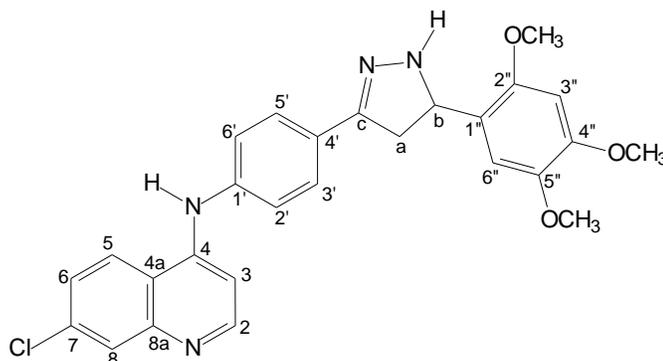
Rendimiento = 74,08 % pf = 106-108 °C

IR ν_{\max} 3376 (NH).

RMN ^1H δ 2.84 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.41 (m, 1H, **Ha**), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 4.78 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 6.90-7.00 (m, 4H, **H3**, **H2''**, **H5''**, **H6''**), 7.37 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.46 (sa, 1H, NH), 7.58 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.66 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 7.90 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.48 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.19 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 41.2 (**Ca**), 56.1 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 64.1 (**Cb**), 103.0 (**C3**), 111.1, 112.4, 119.1, 119.3, 122.5 (**C2'**, **C6'**), 125.1 (**C5**), 125.6 (**C6**), 127.1 (**C3'**, **C5'**), 128.0, 128.2 (**C8**), 129.6, 134.6, 136.1, 140.8, 148.2, 148.7, 149.1, 149.4, 150.1, 152.4 (**C2**).

Derivado 7-cloro-*N*-(4-(4,5-dihidro-5-(2,4,5-trimetoxifenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **7g**



Rendimiento = 76,15 % pf = 164-165 °C

IR ν_{\max} 3380 (NH).

RMN ^1H δ 2.70 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.35 (m, 1H, **Ha**), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 4.98 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 6.70 (s, 4H, **H3''**), 6.99-7.01 (m, 2H, **H3**, **H6''**), 7.34 (sa, 1H, NH), 7.35 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.65 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 7.90 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.48 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.18 (sa, 1H, NH).

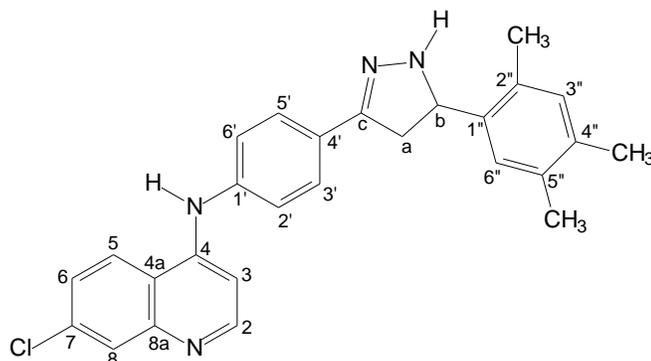
RMN ^{13}C δ 40.5 (**Ca**), 56.6 (OCH₃), 56.8 (OCH₃), 57.2 (**Cb**), 105.3 (**C3**), 119.8, 120.4 (**C2'**, **C6'**), 122.9, 125.2 (**C5**), 125.3 (**C6**), 125.8 (**C3'**, **C5'**), 127.1, 128.1 (**C8**), 128.8, 129.1, 130.3, 131.4, 134.9, 134.9, 143.2, 150.0, 152.2 (**C2**).

AE **C**₂₇**H**₂₅**Cl****N**₄**O**₃ **PM** = 488,9654

calculado **C** 66.32 %, **H** 5.15 %, **N** 11.46 %

encontrado **C** 66.34 %, **H** 5.20 %, **N** 11.69 %

Derivado 7-cloro-*N*-(4-(4,5-dihidro-5-(2,4,5-trimetilfenil)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **7j**



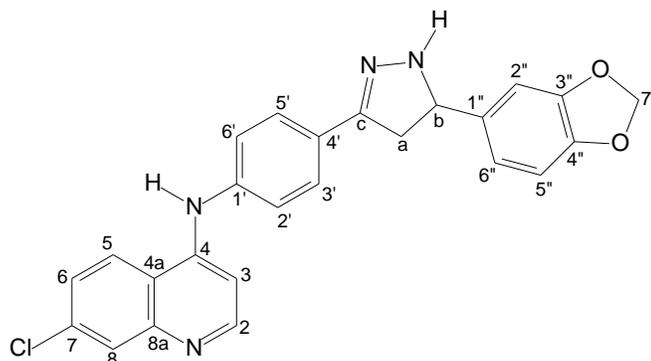
Rendimiento = 72,08 % pf = 197-199 °C

IR ν_{\max} 3289 (NH).

RMN ^1H δ 2.15 (s, 6H, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 2.67 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.45 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 4.93 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 6.92 (s, 1H, **H3''**), 7.00 (d, 1H, **H3**, J: 5,18 Hz), 7.19 (s, 1H, **H6''**), 7.36 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.43 (sa, 1H, NH), 7.57 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.65 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 7.89 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.48 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.18 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 19.0 (CH_3), 19.3 (CH_3), 19.6 (CH_3), 40.2 (**Ca**), 60.9 (**Cb**), 103.0 (**C3**), 119.0, 120.0, 122.6 (**C2'**, **C6'**), 125.1 (**C5**), 125.7 (**C6**), 127.0 (**C3'**, **C5'**), 127.5, 127.9 (**C8**), 129.7, 132.1, 132.6, 133.8, 134.7, 134.8, 138.8, 148.5, 149.7, 152.1 (**C2**).

Derivado *N*-(4-(5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)-7-cloroquinolin-4-amina, **7k**



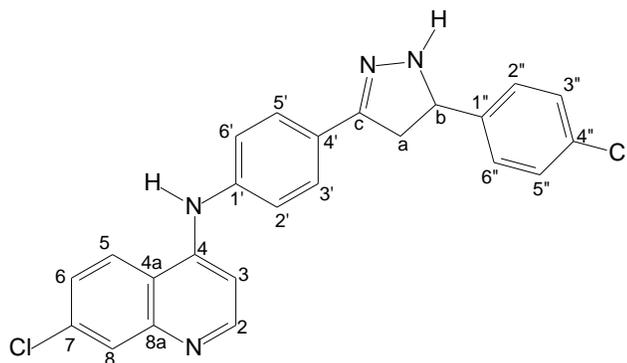
Rendimiento = 73,80 % pf = 149-151 °C

IR ν_{\max} 3215 (NH).

RMN ^1H δ 2.81 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.35 (m, 1H, **Ha**), 4.76 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 5.98 (s, 2H, **H7''**), 6.80-6.90 (m, 2H, **H5''**, **H6''**), 6.94 (s, 1H, **H2''**), 7.01 (d, 1H, **H3**, J: 5,18 Hz), 7.36 (d, 2H, **H2'**, **H6'**, J: 8,67 Hz), 7.46 (sa, 1H, NH), 7.58 (dd, 1H, **H6**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 7.66 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 8,67 Hz), 7.90 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9,15 Hz), 8.48 (d, 1H, **H2**, J: 5,21 Hz), 9.18 (sa, 1H, NH).

RMN ^{13}C δ 41.2 (**Ca**), 64.0 (**Cb**), 101.4 (**C7''**), 103.0 (**C3**), 107.5 (**C2''**), 108.5 (**C5''**), 120.3 (**C4''**), 122.6 (**C2'**, **C6'**), 125.1 (**C5**), 125.3 (**C6**), 125.7, 127.1 (**C3'**, **C5'**), 127.9, 128.2 (**C8**), 129.6, 134.7, 137.5, 140.7, 146.9, 147.9, 148.9, 152.2 (**C2**).

Derivado 7-cloro-*N*-(4-(5-(4-clorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina, **7l**



Rendimiento = 74,70 % pf = 205-206 °C

IR ν_{\max} 3315 (NH).

RMN ^1H δ 2.82 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 3.45 (dd, 1H, **Ha**, J: 16,18 Hz, J: 10,88 Hz), 4.84 (t, 1H, **Hb**, J: 10,88 Hz), 7.01 (d, 1H, **H3**, J: 5.21 Hz), 7.35-7.45 (m, 4H, **H2'**, **H6'**, **H3''**, **H5''**), 7.46 (sa, 1H, NH), 7.55-7.66 (m, 5H, **H6**, **H3'**, **H5'**, **H2''**, **H6''**), 7.90 (d, 1H, **H8**, J: 1,97 Hz), 8.42 (d, 1H, **H5**, J: 9.15 Hz), 8.49 (d, 1H, **H2**, J: 5.21 Hz), 9.19 (sa, 1H, NH).

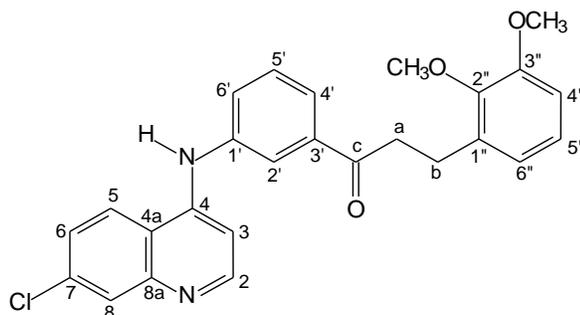
RMN ^{13}C δ 41.2 (**Ca**), 63.5 (**Cb**), 103.0 (**C3**), 119.1, 122.5 (**C2'**, **C6'**), 125.1 (**C5**), 125.6 (**C6**), 127.1 (**C3'**, **C5'**), 128.2 (**C8**), 128.9 (**C2''**, **C6''**), 129.1 (**C3''**, **C5''**), 130.0, 132.2, 134.5, 140.9, 142.7, 148.1, 149.0, 150.2, 152.4 (**C2**).

6.2.4. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS 1-(3 ó 4-(7-cloro quinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)propan-1-ona (**8** y **9**)

En un balón fondo redondo de 25 mL provisto de un conector, agitación magnética, se colocaron 100 mg del derivado 4-aminoquinolinilchalcona respectivo, paladio (Pd) al 10 % en carbón, 10 mg y 5 mL de etanol seco, se agitó en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente por 48 h, transcurrido este tiempo se removió el Pd por filtración sobre celite y concentrado al vacío, obteniéndose un sólido que fue lavado con agua y éter etílico y recristalizado en etanol.

Derivado 1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,3-dimetoxifenil) propan-1-ona,

8b



Rendimiento = 45,10 % pf = 207-209 °C

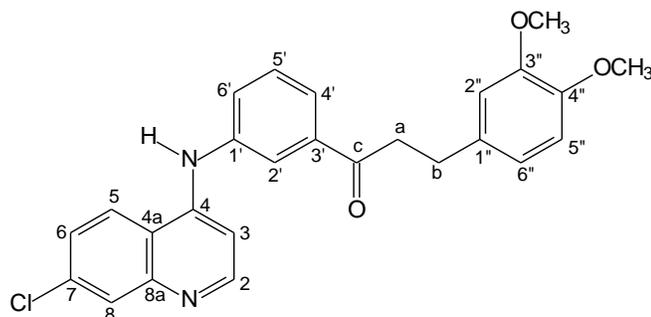
IR ν_{\max} 3150 (NH); 1685 (C=O).

RMN ^1H δ 2.84 (t, 2H, **Hb**, J: 6,93 Hz), 3.17 (t, 2H, **Ha**, J: 6,93 Hz), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 6.59-6.73 (m, 3H, **H3**, **H2''**, **H6''**), 6.88 (d, 1H, **H5''**, J: 2,97 Hz), 7.11-7.2 (m, 2H, **H5'**, **H6'**), 7.29 (s, 1H, **H4''**), 7.41 (sa, 1H, NH), 7.57, (m, 2H, **H6**, **H2'**), 7.88-8.00 (m, 2H, **H2**, **H8**), 8.91 (sa, 1H, **H5**).

RMN ^{13}C δ 26.1 (**Cb**), 40.0 (**Ca**), 55.8 (OCH₃), 60.7 (OCH₃), 99.7 (**C3**), 104.6, 110.6, 117.6, 120.4, 122.0 (**C5**), 123.0 (**C6**), 124.1, 125.3, 127.1, 129.6 (**C8**), 133.5, 135.3, 135.4, 137.0, 147.1, 147.3, 152.7 (**C2**), 155.5.

Derivado 1-(3-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(3,4-dimetoxifenil) propan-1-ona,

8e



Rendimiento = 44,80 % pf = 205-206 °C

IR ν_{\max} 3190 (NH); 1670 (C=O).

RMN ^1H δ 2.89 (t, 2H, **H_b**, J: 6,93 Hz), 3.17 (t, 2H, **H_a**, J: 6,93 Hz), 3.75 (s, 3H, **OCH₃**),
3.77 (s, 3H, **OCH₃**), 6.62-6.70 (m, 4H, **H₃**, **H_{2''}**, **H_{5''}**, **H_{6''}**), 7.21 (sa, 1H, **NH**),
7.39-7.49 (m, 2H, **H_{5'}**, **H_{6'}**), 7.64 (m, 2H, **H₈**, **H_{2'}**), 7.74 (d, 1H, **H_{4'}**, J: 7,66
Hz), 8.02-8.09 (m, 2H, **H₂**, **H₈**), 9.17 (sa, 1H, **H₅**).

RMN ^{13}C δ 29.7 (**C_b**), 40.7 (**C_a**), 56.1 (**OCH₃**), 99.5 (**C₃**), 111.9, 112.4, 117.9, 120.4, 125.1
(**C₅**), 126.9 (**C₆**), 127.4 (**C₈**), 130.0, 130.2, 133.7, 133.8, 137.9, 138.6, 141.0,
147.7, 149.2 (**C₂**), 155.7, 198.3 (**C=O**).

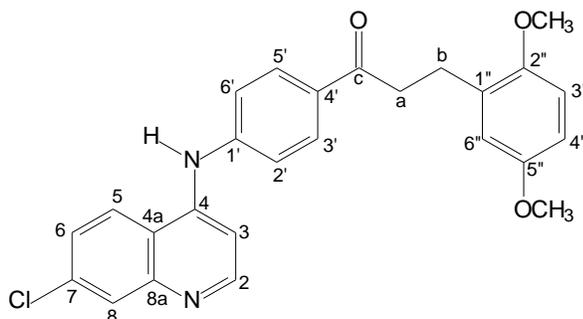
Anal. **C₂₆H₂₃ClN₂O₃** · EtOH **PM = 446,9254**

calculado **C 69.87 %**, **H 5.19 %**, **N 6.27 %**

encontrado **C 68.26 %**, **H 5.97 %**, **N 5.73 %**

Derivado 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil) propan-1-ona,

9d



Rendimiento = 76,12 % pf = 113-115 °C

IR ν_{\max} 3110 (NH); 1675 (C=O).

RMN ^1H δ 2.96 (t, 2H, **Hb**, J: 7,66 Hz), 3.18 (t, 2H, **Ha**, J: 7,66 Hz), 3.71 (s, 3H, OCH_3),
3.75 (s, 3H, OCH_3), 6.67-6.79 (m, 4H, **H3**, **H2''**, **H3''**, **H5''**), 7.30 (sa, 1H, NH),
7.50-7.58 (m, 3H, **H6**, **H2'**, **H6'**), 7.93 (d, 2H, **H3'**, **H5'**, J: 7,91 Hz), 8.06 (sa, 2H, **H2**, **H8**), 9.00 (sa, 1H, **H5**).

RMN ^{13}C δ 25.9 (**Cb**), 38.9 (**Ca**), 55.8 (OCH_3), 56.0 (OCH_3), 100.3 (**C3**), 111.5, 111.7,
116.8, 117.3, 120.8, 121.1, 124.4, 124.7 (**C5**), 125.3 (**C6**), 127.4, 129.8,
130.6, 133.6, 153.7 (**C2**), 198.5 (**C=O**).

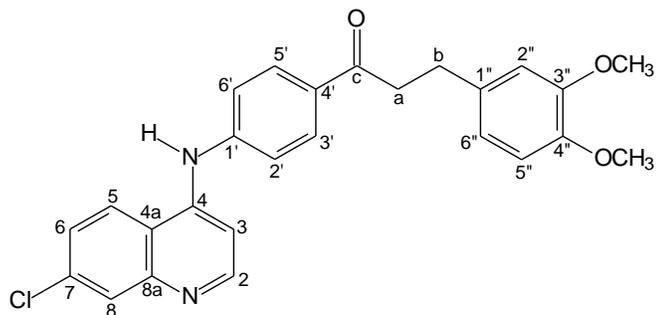
Anal. **C**₂₆**H**₂₃**Cl****N**₂**O**₃ · EtOH **PM** = 446,9254

calculado **C** 69.87 %, **H** 5.19 %, **N** 6.27 %

encontrado **C** 68.35 %, **H** 6.01 %, **N** 5.89 %

Derivado 1-(4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(2,5-dimetoxifenil) propan-1-ona,

9e



Rendimiento = 59,65 % pf = 110-112 °C

IR ν_{\max} 3128 (NH); 1678 (C=O).

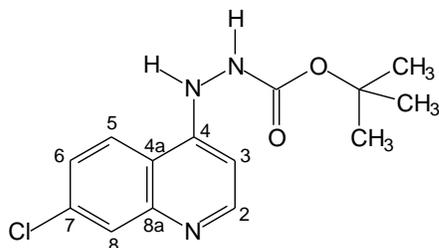
RMN ^1H δ 2.94 (t, 2H, **H_b**, J: 7,66 Hz), 3.18 (t, 2H, **H_a**, J: 7,66 Hz), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 6.55-6.76 (m, 3H, **H_{2''}**, **H_{3''}**, **H_{5''}**), 6.80 (d, 1H, **H₃**, J: 5,94 Hz), 7.25 (sa, 1H, NH), 7.49-7.63 (m, 3H, **H₆**, **H_{2'}**, **H_{6'}**), 7.88 (d, 2H, **H_{3'}**, **H_{5'}**, J: 7,91 Hz), 8.09 (sa, 2H, **H₂**, **H₈**), 9.08 (sa, 1H, **H₅**).

RMN ^{13}C δ 29.8 (**C_b**), 40.6 (**C_a**), 56.1 (OCH₃), 100.3 (**C₃**), 112.0, 112.5, 118.3, 120.4, 124.7 (**C₅**), 127.4 (**C₆**), 129.7 (**C₈**), 133.7, 133.8, 135.3, 138.9, 141.4, 141.8, 147.8, 149.2 (**C₂**), 155.0, 198.0 (C=O).

6.2.5. SÍNTESIS DEL INTERMEDIARIO 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)carbamato de *t*-butilo **(10)**

En un balón fondo redondo de 50 mL provisto de un refrigerante, agitación magnética y calentamiento, se colocaron 1,000 g (5,0492 moles, 1 equiv.) de la 4,7-dicloroquinolina (**1**), 734,02 mg (5,5541 moles, 1,1 equiv.) del carbazato de *t*-butilo y 10 mL de etanol seco, bajo condiciones de reflujo entre 80-85 °C por 12 horas, obteniéndose un sólido que fue recristalizado en etanol.

INTERMEDIARIO 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino) carbamato de *t*-butilo, **10**



Rendimiento = 96,85 % pf = 110-112 °C

IR ν_{\max} 3445 (NH); 1780 (C=O Ester).

RMN ^1H δ 1.47 (s, 9H, **CH₃**), 6.87 (d, 1H, **H₃**, J: 6,91 Hz), 7.84 (dd, 1H, **H₆**, J: 9,15 Hz, J: 1,97 Hz), 8.19 (d, 1H, **H₈**, J: 1,97 Hz), 8,66 (d, 1H, **H₅**, J: 9,15 Hz), 8.6 (d, 1H, **H₂**, J: 6,91 Hz), 10.00 (sa, 1H, **NH**), 11.28 (sa, 1H, **NH**).

RMN ^{13}C δ 28.5 (3**CH₃**), 81.4 (**C**), 99.3 (**C₃**), 114.1, 120.0 (**C₅**), 125.9 (**C₆**), 128.2 (**C₈**), 139.0, 139.27, 144.4, 155.0 (**C₂**), 157.4 (**C=O**).

6.2.6. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS 1-(7-cloroquinolin-4-il amino)-3-(fenilsustituido)úrea (**11**)

Procedimiento A

En un balón fondo redondo de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 150 mg (0,5054 mmoles, 1 equiv.) de 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)carbamato de *t*-butilo (**10**), la anilina respectiva (0,5559 mmoles, 1,1 equiv.) y 8 mL de etanol, se agitó a temperatura ambiente por 48 horas, obteniéndose un sólido que fue lavado con agua y éter etílico y recristalizado en etanol.

Procedimiento B

En un balón fondo redondo de 50 mL provisto de un refrigerante de agitación magnética se colocaron 150 mg (0,5054 mmoles, 1 equiv.) de 2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)carbamato de *t*-butilo (**10**), la anilina respectiva (0,5559 mmoles, 1,1 equiv.) y 8 mL de etanol, se agitó a temperatura ambiente por 24-48 horas, obteniéndose un sólido que fue lavado con agua y éter etílico y recristalizado en etanol.

6.3. SECCIÓN BIOLÓGICA

6.3.1. ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA

La evaluación de la posible actividad antimalárica de los derivados 7-Cloroquinolina-4-sustituidos se realizó mediante:

- La Inhibición de la formación de β -hematina (*in vitro*)
- La Prueba de Peter, o ensayo de actividad antimalárica *in vivo*.

ENSAYO DE INHIBICIÓN DE LA FORMACIÓN DE β -HEMATINA (IF β H):

El ensayo de IF β H se realizó de acuerdo al protocolo reportado por Baelmans y colaboradores (2000)¹⁴⁶. Para ello, se utilizó una solución de clorhidrato de hemina recientemente preparada, (5,2 mg/mL 4 mM), en dimetil sulfóxido (DMSO), como fuente de hemo, y se distribuyó en microplacas de 96 pozos, (50 μ L/pozo). Se adicionaron los compuestos a ensayar disueltos en DMSO (a concentraciones entre 100 μ M y 1 μ M) por triplicado (50 μ L), en los pozos contentivos de hemina para obtener concentraciones finales por pozo entre 2,5 mM y 125 μ M. Se realizaron en paralelo pozos controles con los solventes: agua (50 μ L) y DMSO (50 μ L).

La formación de la β -hematina se inició mediante la adición de buffer fosfato (100 μ L, 0,2 M, pH 4,4) a cada uno de los pozos. Las microplacas se incubaron a 37 °C por 48 horas para permitir la completa reacción, se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min. en una centrífuga IEC-CENTRA, MP4R, se descartó el sobrenadante (hemina no cristalizada) mediante inversión de la placa y el sedimento (β -hematina formada), se lavó dos veces con DMSO (200 μ L) para eliminar totalmente la hemina libre. Finalmente, se disolvió con hidróxido de sodio (200 μ L, 0,2 N) para hidrolizar la β -hematina a hemina. En otra placa, se diluyeron los agregados solubilizados 1:2 con hidróxido de sodio (0,1 N) y se les

determinó la absorbancia a 405 nm en lector de placas Microplate Reader, BIORAD-550. Se utilizó la CQ como control de actividad conocida.¹⁴⁶.

El porcentaje de inhibición de la formación de la β -hematina se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = 100 \times 1 - \frac{[\text{DO Muestra}]}{[\text{DO Control}]}$$

Donde:

DO Muestra = Dispersión óptica de la Muestra

DO Control = Dispersión óptica del Control

PRUEBA DE PETER Ó TEST SUPRESIVO DE CUATRO DÍAS¹⁴⁹:

El modelo murino utilizado fue el siguiente:

- Ratones de la cepa Balb-C
- *Plasmodium berghei*, cepa ANKA (sensible a cloroquina)

Ratones Balb-C machos, con un peso entre 18-22 g, mantenidos con una dieta comercial de Ratarina® y agua *ad libitum*, se infectaron con el *P. berghei* por vía intraperitoneal (ip) usando un inóculo de 1×10^6 eritrocitos infectados, diluidos en buffer fosfato (PBS, 10 mM, pH 7,4, 0,1 mL). El curso de la infección se controló mediante el examen de extendidos de sangre tomada a través de un pequeño corte de la cola del ratón, coloreados con Giemsa, por microscopia de luz.

El día del inicio de la prueba de Peters, se preparó un inóculo similar (10^6 parásitos /0,1 mL) a partir de la sangre de un ratón donante con parasitemia alta (>30%). Se infectaron 5 ratones (n = 5) para cada grupo experimental (para cada compuesto a

ensayar), el control positivo (CQ) y los controles infectados sin tratamiento (Grupo control, que reciben el vehículo). Los compuestos a ensayar se disolvieron en DMSO (100-200 μ L) y a partir de esta solución, se prepararon dispersiones en solución Salina-Twen 80 al 2 % (vehículo), a fin de tratar a los animales con una dosis de 20 mg/Kg de cada compuesto, por administración ip. de 0,1 mL de la dispersión. La CQ se preparó en agua destilada y se administró en una dosis de 25 mg/Kg por administración ip de 0,1 mL de la solución.

En cada grupo, el tratamiento se inicia el día 0, dos horas después de la infección, y a partir de entonces, se tratan diariamente, una vez al día, a la misma hora, durante 4 días, por administración de 0,1 mL de la preparación del compuesto, o vehículo, hasta el día 4. Una hora después del tratamiento, del día 4, se procede a la preparación de extendidos de sangre obtenida de la cola de cada ratón, teñidos con Giemsa a fin de determinar la parasitemia (parasitemia al 4° día), mediante examen del extendido por microscopía de luz. La parasitemia observada se expresa en términos de porcentaje (parasitos por cada 100 eritrocitos). Durante el experimento, se lleva un registro de la mortalidad de los ratones a fin de calificar efectos tóxicos y de calcular el tiempo de sobrevivencia post infección de los ratones tratados, en relación al grupo control (DSPI).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO: Para determinar si se presentan diferencias significativas entre los grupos, los resultados se analizaron por una Prueba de T (t-student) no apareada y por un Análisis de Varianza de una sola vía (ANOVA) asumiendo un 95% de intervalo de confianza.

6.3.2. ACTIVIDAD ANTINEOPLÁSICA

MÉTODO DEL BROMURO DE 3-(4,5-DIMETILTIAZOL-2-IL)-2,5-DIFENILTETRAZOLIO (MTT):

La proliferación de las células se determinó mediante el ensayo descrito por Mosmann en 1983, para lo cual se utilizaron cuatro líneas celulares humanas neoplásicas : Células leucémicas Jurkat E6.1, células leucémicas HL60, células de cáncer de pulmón humano A549, células de cáncer de mama humano MCF-7 y linfocitos humanos normales obtenidos de sangre periférica. Para realizar este procedimiento se colocaron las células en crecimiento de forma exponencial en placas de 96 pozos fondo plano (5×10^4 /pozo) en 200 μL de medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con 10% suero fetal bovino (SFB) inactivado por calor, y conteniendo 1×10^{-9} M- 1×10^{-3} M de los compuestos y tratadas durante 24, 48 y 72 h a 37 °C. Las células normales se trataron con concentraciones crecientes de los compuestos seleccionados por 24h y las células controles se trataron con vehículos acuosos, DMSO 0,1%; y como controles positivos se utilizaron el trióxido de arsénico (As_2O_3) en cantidades 1 μM , 2,5 μM , 4,5 μM , 7,5 μM , 10 μM y 25 μM y la quercetina, en cantidades 1 μM , 5 μM , 10 μM , 25 μM , 50 μM y 100 μM . Al finalizar los períodos de incubación, se añadió 50 μL de una solución de MTT de 0,5 mg/mL en PBS (0.15 μM NaCl, 0.1 M fosfato de potasio pH 7.4) a cada pozo, las placas se incubaron a 37 °C por 4h adicionales. Al finalizar el tiempo de incubación se centrifugaron las placas a 1800 rpm durante 5 minutos, seguidamente se removieron los sobrenadantes cuidadosamente, se disolvieron los cristales de formazán (azul púrpura) en 200 μL de DMSO puro y se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente¹⁵¹.

Seguidamente se determinó la absorbancia de las soluciones de formazán sobre un lector de microplacas de elisa a una longitud de onda de 540 nm, para cada concentración de los compuestos se realizaron cuatro réplicas, se calcularon y reportaron los promedios más o menos la desviación standard (\pm SD) como el porcentaje de crecimiento contra el control. Se determinó la reducción en un 50% del número de células en relación a los

controles (Cl_{50}) por una regresión no lineal de las curvas de dosis-respuesta usando el programa Graph Pad Prism 4.0¹⁵³⁻¹⁵⁵.

Luego se precisó el índice de selectividad (IS) de los derivados **4**, **5**, **6** y **7** seleccionados y del compuesto **9d**, definido como la relación de citotoxicidad entre las células normales y las células Jurkat E6.1: Cl_{50} (linfocitos T normales) / Cl_{50} células neoplásicas). Cuando el IS es > 1 la citotoxicidad para las células neoplásicas supera a la citotoxicidad en las células normales¹⁵⁶⁻¹⁵⁸.

ENSAYO DE LA UNIÓN DE LA ANEXINA V

La actividad sobre el proceso de apoptosis de los derivados se identificó mediante la presencia del fosfolípido fosfatidilserina de la interfase citoplasmática de la membrana en la superficie celular y su unión con la proteína anexina V, la cual se encuentra conjugada con el colorante fluorescente isotiocianato de fluoresceína (FITC). La metodología seguida consistió en tratar 5×10^4 células con los derivados sintéticos, con As_2O_3 y con quercetina como controles positivos, que son inductores de la apoptosis en las células leucémicas Jurkat E6.1 y HL60. Este tratamiento se llevó a cabo durante 24 y 48h a 37 °C, al finalizar los tiempos de incubación las células se lavaron en una oportunidad con PBS y se resuspendieron en 200 μ L del buffer de unión (150 mM NaCl, 1.8 mM $CaCl_2$, 10 mM HEPES, 5 mM KCl, 1 mM $MgCl_2$) conteniendo anexina V-FITC, e incubaron durante 15 minutos a 4 °C en la oscuridad. Finalmente, se adicionaron 100 μ L yoduro de propidio (PI) (50 μ g/mL) durante al menos 10 minutos a 4 °C en la oscuridad y se analizó el doble marcaje, dentro de 1 hora, por citometría de flujo^{159, 160}.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO: Todos los experimentos fueron llevados al menos tres veces por cuadruplicado. Los valores de Cl_{50} fueron determinados por una regresión no-lineal de los experimentos individuales, utilizando el programa Graph Pad Prism®, version 5.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con base a los resultados obtenidos en este trabajo podemos formular las siguientes conclusiones y recomendaciones:

1. Se sintetizaron 41 compuestos derivados de la 7-cloroquinolina-4-sustituidos, no reportados en la literatura, lo cual constituye un aporte importante para la investigación en el área de nuevos agentes con posible actividad Antimalárica y Antineoplásica y sirve de base para el desarrollo de una nueva generación de compuestos útiles para la profilaxis y/o tratamiento de estas patologías.

2. Las estrategias sintéticas empleadas fueron de gran utilidad y viabilidad ya que nos permitieron la preparación de 25 derivados (*E*)-1-(3 ó 4-(7-cloro quinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituidos)prop-2-en-1-ona (**4** y **5**), 12 derivados 7-cloro-*N*-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenil susituidos)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina (**6** y **7**) y 4 derivados 7-cloro-4-[(3 ó 4-(fenilsustituido)etilcarbonil)fenil] aminoquinolinas (**8** y **9**), con rendimientos de moderados a buenos (45-76 %).

3. La aplicación de una metodología clásica de la Química Medicinal como lo fue la farmacomodulación de los compuestos (**4** y **5**), para obtener derivados rígidos (**6** y **7**) y derivados flexibles (**8** y **9**), fue bastante adecuada, ya que los compuestos resultantes mostraron actividades antimalárica, antiproliferativa y proapoptótica similares o superiores a la de los compuestos modificados estructuralmente.

4. En el caso de la evaluación de la actividad Antimalárica *in vitro*, los derivados **4e**, **4f**, **4g**, **4i**, **4l**, **5a**, **5c**, **5e**, **5g**, **6e**, **6f**, **6g**, **6j**, **6l**, **7g**, **7j** y **7k**, mostraron actividades inhibitorias la formación de la β hematina importantes, superiores al 80 %, siendo los derivados **4l**, **5c** y **6e**, **6f**, los mejores al presentar valores de inhibición de formación de la β -hematina

comparable al de la CQ. Con respecto a la evaluación Antimalárica *in vivo* se encontró que el derivado **4e** fue el más activo con 26,4 días de sobrevivencia post-infección (230 % de incremento) y una parasitemia de 2,4 % (96 % de reducción).

5. En lo referente a la evaluación de la viabilidad y la proliferación de las líneas celulares neoplásicas Jurkat E6.1, HL60, MCF-7 y A549 se evidenció las células HL60 fueron las más sensibles a estos derivados. Los compuestos **4a**, **4g**, **4l**, **4m** y **6e** mostraron la mayor actividad inhibitoria del crecimiento de éstas células leucémicas después de 24h de tratamiento con valores de CI_{50} de 1,19 μ M, 1,08 μ M, 0,59 μ M y 0,43 μ M y 0,94 μ M, respectivamente, siendo algunos de estos derivados hasta tres veces más activos que la doxorubicina (CI_{50} de 1,60 μ M) y más de 100 veces más activos que la CQ (CI_{50} >100 μ M).

6. La realización del ensayo preliminar del efecto de los derivados **4**, **5**, **6** y **7** seleccionados y del compuesto **9d**, sobre la viabilidad de los linfocitos humanos normales tratados con concentraciones crecientes de los compuestos por 24h, mostró que los derivados **6** y **7** exhibieron una menor citotoxicidad al presentar CI_{50} de las células normales bastantes elevadas por el orden de los 40-50 μ M, siendo los compuestos **4e**, **4f**, **6e**, **6g**, **6j**, **7l** y **9d** los menos citotóxicos al presentar IS de 14,53; 11,63; 14,49; 9,19; 8,82; 7,67 y 9,03, respectivamente.

7. Se recomienda continuar trabajando en la síntesis de estos derivados tipo 7-cloroquinolina-4-sustituidos, especialmente los que del tipo 3-fenilamino, tanto con la función chalcona como los **4**, como los rígidos **6**, principalmente sustituidos con los grupos metoxi que son los que le confieren una mayor actividad antimalárica, antiproliferativa y proapoptótica a estos compuestos.

REFERENCIAS

8. REFERENCIAS

1. Litter M. Farmacología experimental y clínica. 7^a edition. El Ateneo. Argentina, **1988**.
2. World Malaria Report, **2010**. World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland. http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2010/worldmalariareport2010.pdf. Consultado en mayo 2012.
3. World Malaria Report, **2011**. World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland. http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/9789241564403_eng.pdf. Consultado en mayo 2012.
4. Braña, M.F., Martín-Cantalejo Y., Migallón A. S., Morán, M. Parasitosis y Cáncer. *An R Acad Nac Farm.* **2008**, 74, 29-50.
5. World Health Organization. Cancer Stats, Cancer Worldwide. International Agency for Research on Cancer. Cancer Research UK. September **2011**. <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world/the-global-picture/cancer-overall-world>. Consultado en mayo 2012.
6. Cavalli, A., Lizzi, F., Bongarzone, S., Brun, R., Krauth-Siegel, R. L., Bolognesi, M. L. Privileged structure-guided synthesis of quinazoline derivatives as inhibitors of trypanothione reductase. *Bioorg Med Chem Lett.* **2009**, 19, 3031-3035.
7. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre el Paludismo en el mundo 2005. http://rbm.who.int/wmr2005/html/exsummary_sp.htm. Consultado en mayo 2012.

8. Oletta, J. F., Carvajal, A., Walter, C. Red Defendamos la Epidemiología Nacional Epidemia de malaria en el estado Bolívar abril de **2010**.
9. Gobierno Bolivariano de Venezuela. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Boletín Epidemiológico N° 10. Semana Epidemiológica 14. Marzo **2010**.
10. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 11 edition. John H. Block and John M. Beale Jr., editors. Lippincott Williams & Wilkins, **2004**.
11. Thomas, L. Lemke, D. A. Williams. Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 6^a Edition. T. L. Lemke D. A. and D. A. Williams editors. Wolters Kluwer / Lippincott-Williams & Wilkins, **2007**.
12. Centers for Disease Control & Prevention. Center for Global Health. Laboratory Identification of parasites of Public Health Concern. Reviewed: 11/10/**2004**, de <http://dpd.cdc.gov/dpdx/html/Malaria.htm>. Consultado en mayo 2012.
13. Drew, M. E., Banerjee, R., Uffman, E. W., Gilbertson, S., Rosenthal, P., J. Goldberg, D.E. Hemoglobin degradation. *Curr Top Microbiol Immunol*. **2005**, 295, 275-291.
14. Hempelmann E. Hemozoin biocrystallization in *Plasmodium falciparum* and the antimalarial activity of crystallization inhibitors. *Parasitol Res*. **2007**, 100, 671-676.
15. Kumar, S., Guba, M., Choubey, V., Maity P., Bandyopadhyay, U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β -hematin) formation: A mechanistic update. *Life Sci*. **2007**, 80, 813-828.

16. Raviña, E. Medicamentos. Un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos. Universidade de Santiago de Compostela. España. Vol. 1. **2008**.
17. Chauire, L., Ceidiel, J. F. Paul Erlich: de las balas mágica a la quimioterapia. *Colombia Médica*. **2008**, 39, 291-295.
18. Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11 edition. J. G. Hardman and L. E. editors. McGraw-Hill Companies, Inc. **2005**.
19. Introduction to Medicinal Chemistry, How Drugs Act and Why. A. Gringauz. Willey-VCH. Inc, **1997**.
20. Scott, R., Wongrichanalai, C., Buathong, N., McDaniel P., Walsh, D., Knirsch, C., Ohrt, C. Effective treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria with azithromycin-quinine combinations: a randomized, dose-ranging study. *Am J Trop Med Hyg*. **2006**, 74, 401-406.
21. Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5 edition. D. A. Williams and T. L. Lemke editors. Lippincot-Williams & Wilkins, **2008**.
22. Combinación Terapéutica de Medicamentos antipalúdicos. Informe de una Reunión Consultiva Técnica. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, **2001**.
23. McCullough, K., Nojima, M. Recent advances in the chemistry of cyclic peroxides. *Curr Top Med Chem*. **2001**, 5, 601-636.
24. Thaithong, S. Clones of different sensitivities in drug-resistant isolates of *Plasmodium falciparum*. *Bulletin of the World Health Organization* **1983**, 61, 709-712.

25. Murphy, G. S, Basri, H., Purnomo, M. S., Andersen, E. M., Bangs, M. J., Mount, D. L., Gorden, J., Lal, A. A., Purwokusumo, A. R., Harjosuwarno, S., Sorensen, K., Hoffman, S. L. Vivax malaria resistant to treatment and prophylaxis with chloroquine. *Lancet*. **1993**, *341*, 96-100.
26. Looareesuwan, S., Buchachart, K., Wilairatana, P., Chalermrut, K., Rattanapong, Y., Amradee, S., Siripiphat, S., Chullawichit, S., Ittiverakul, M., Triampon, A., Walsh, D. S. Primaquine-tolerant vivax malaria in Thailand. *Ann Trop Med Parasit*. **1997**, *91*, 939-943.
27. Mockenhaupt, F. P. Mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Today*. **1995**, *11*, 248-253.
28. Kaur, K., Jain, M., J., Reddy, R., Jain, R. Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials. *Eur J Med Chem*. **2010**, *45*, 3245-3264.
29. Eswaran, S., Vasudeva, A., Pal, N. K., Chowdhury, I. H. Design and synthesis of some new quinoline-3-carboxyhydrazone derivatives as potential antimycobacterial agents. *Bioorg Med Chem Lett*. **2010**, *20*, 1040-1044.
30. De Souza, M. V. N., Paris, K., C., Kaiser, C. R., Peralta, M. A. Synthesis and in vitro antitubercular activity of a series of quinoline derivatives. *Bioorg Med Chem*. **2009**, *17*, 1474-1480.
31. Kouznetsov, V. V., Amado, D. F. Antimaláricos: construcción de híbridos moleculares de Cloroquina. *Universitas Scientiarum*. **2008**, *13*, 306-320.
32. Kurosawa, Y., Dorn, A.; Kitsuji-Shirane, M., Shimada, H., Satoh, T., Matile, H., Hofheinz, W., Masciadri, R., Kansy, M., Ridley, R. G. Hematin polymerization assay as a

- high-throughput screen for identification of new antimalarial pharmacophores. *Antimicrob Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2638-2644.
33. Loria, P., Miller, S., Foley, M., Tilley, L. Inhibition of the peroxidative degradation of haem as the basis of action of chloroquine and other quinoline antimalarials. *Biochem J.* **1999**, *339*, 363-370.
34. Sullivan, D. J., Guzman, I. Y., Russell, D. G., Goldberg, D. E. On the molecular mechanism of chloroquine's antimalarial action. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* **1996**, *93*, 11865-11870.
35. Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance. *Int J Parasitol.* **1997**, *27*, 231-240.
36. Krogstad, D. J., Gluzman, I. Y., Kyle, D. E., Oduola, A. M., Martin, S. K., Milhous, W. K., Schlesinger, p. H. Efflux of chloroquine from *Plasmodium falciparum* mechanism of chloroquine resistance. *Science.* **1987**, *238*, 1283-1285.
37. Lehane, A. M., McDevitt, C. A., Kirk, K., Fidock, D. Degree of chloroquine resistance in *Plasmodium*-Is the redox system involved?. *Int J parasitol. D & D Res.* **2012**, *2*, 47-57.
38. Egan, T. J., Hunter, R, Kaschula, C. H., Marquez, H. M., Misplon, A., Walden, J. Structure-function relationship in aminoquinolinas: Effect of amino and chloro groups on quinoline-hematin complex formation, inhibition of β -hematin formation, and antiplasmodial activity. *J Med Chem.* **2000**, *43*, 283-291.
39. Dascombe, M. J., Drew, M. G., Morris, H., Wilairat, P., Auparakkitanon, S., Moule, W. A., Alizadeh-Shekalgourabi, S., Evans, P. G., Lloyd, M., Dyas, A. M., Carr, P., Ismail, F. M. Mapping antimalarial pharmacophores as a useful tool for the rapid discovery of

- drugs effective in vivo: design, construction, characterization, and pharmacology of metaquine. *J Med Chem.* **2005**, *48*, 5423-5436.
40. Zitvogel, L., Tesniere, A., Kroemer, G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nature Rev Immunol.* **2006**, *6*, 715-727.
41. Hanahan, D., Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell.* **2000**, *100*, 57-70.
42. Organización Mundial de la Salud. Cáncer. Nota descriptiva N°297. 2011. Extraído de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>. Consultado en mayo 2012.
43. Capote L. G. Frecuencia del cáncer en Venezuela. Banco de Drogas Antineoplásicas. **2008**, 3-6.
44. Wang, T., Niu, G., Kortylewski, M., Burdelya, L., Shain, K., Zhang, S., Bhattacharya, R., Gabrilovich, D., Heller, R., Coppola, D., Dalton, W., Jove, R., Pardoll, D., Yu, H. Regulation of the innate and adaptative immune responses by stat-3 signaling in tumor cells. *Nature Med.* **2004**, *10*, 48-54.
45. Moses, H. L., Yang, E. Y., Pietenpol, J. A. TGF-beta stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cell.* **1990**, *63*, 245-247.
46. Evan, G., Littlewood, T. A matter of life and cell death. *Science.* **1998**, *281*, 1317-1322.
47. Shay, J. W., Bacchetti, S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer.* **1997**, *33*, 787-791.

48. Levine, A. J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*. **1997**, *88*, 323-331.
49. Ghobrial, I., Witzig, T., Adjei, A. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin*. **2005**, *55*, 178-194.
50. Weikkola, T., Alitalo, K. VEGFs, receptors and angiogenesis. *Semin Cancer Biol*. **1999**, *9*, 211-220.
51. Sporn, M. B. The war on cancer. *Lancet*. **1996**, *347*, 1377-1381.
52. Coussens, L. M., Werb, Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol*. **1996**, *3*, 895-904.
53. Zitvogel, L., Tesniere, A., Kroemer, G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nature Rev Immunol*. **2006**, *6*, 715-727.
54. So, T., Takenoyama, M., Mizukami, M., Ichiki, Y., Sugaya, M., Hanagiri T, Sugio K, Yasumoto K. Haplotype loss of HLA class I antigen as an escape mechanism from immune attack in lung cancer. *Cancer Res*. **2005**, *65*, 5945-5952.
55. Diccionario terminológico de ciencias médicas. España: Salvat ediciones, S. A; **1983**.
56. Burgués, J. P., Pontones, J. L., Vera, D., Jiménez, J. F., Ozonas, M. Mecanismos del ciclo celular y la apoptosis implicados en las resistencias a los fármacos de uso intravesical en el cáncer superficial de vejiga. *Actas Urol Esp*. **2005**. *29*, 846-859.

57. Darzynkiewicz, Z., Juan, G., Li, X., Gorczyca, W., Murakami, T., Traganos, F. Cytometry in cell necrobiology: Analysis of apoptosis and accidental cell death (necrosis). *Cytometry*. **1997**, *27*, 1-20.
58. Majno, G., Joris, I. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*. **1995**, *146*, 3-16.
59. Kerr, J. F., Wyllie, A. H., Currie, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. **1972**, *26*, 239-257.
60. Ghobrial, I., Witzig, T., Adjei, A. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin*. **2005**, *55*, 178-194.
61. Medicinal Chemistry, 4^a Edition. Ashutosh Kar editor. New Age International (P) Limited, Publishers. **2008**.
62. Korolkovas, A., Burckhalter, J. H. Complejo esencial de Química Farmacéutica. Editorial Reverté, S.A. **1978**.
63. Delgado, A., Minguillón, C., Joglar, J. Introducción a la Química Farmacéutica. 2^a Edición. Ediciones Díaz de Santos, S. A. **2004**.
64. Florez J. Farmacología Humana. 4ta Edición. España: Masson; **2004**.
65. Derry, W. B., Wilson, L., Jordan, M. A. Substoichiometric binding of taxol suppresses microtubule dynamics. *Biochemistry*. **1995**, *34*, 2203-2211.
66. Kouznetzov, V. V., Meléndez-Gómez, C. Alcaloides quinolínicos: Importancia biológica y esfuerzos sintéticos. *Universitas Scientiarum*. **2005**, *10*, 5-18.

67. Espada, M. y Avendaño, C. Fármacos que interactúan con los ácidos nucleicos. En introducción a la Química Farmacéutica, C. Avendaño (ed.), 2ª edición. McGraw-Hill/Interamericana DE España, SAU, **2001**.
68. Menéndez, J. U. C., Avendaño, C. Optimización de un prototipo. Correlaciones cualitativas estructura química-actividad biológica En introducción a la Química Farmacéutica, C. Avendaño (ed.), 2ª edición. McGraw-Hill/Interamericana DE España, SAU, **2001**.
69. Yadav, J. S., Redy, V. S. Microwave synthesis of the cytotoxic alkaloid luotonin A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1905-1907.
70. Motiur Rahman, A. F. M., Dong Hyeon, K., Jing Lu, L., Eugn-Seok, L., Younghwa, N., Kyu-Yeon, J., Youngjoo, K., Yurngdong, J. Synthesis and Biological Properties of Luotonin A Derivatives. *Bull Korean Chem Soc.* **2008**, *29*, 1988-1992.
71. Vazquez-Martin, A., López-Bonetc, E., Cufí, S., Oliveras-Ferraros, C., Del Barco, S., Martin-Castillo, B., Menendez, J. A. Repositioning chloroquine and metformin to eliminate cancer stem cell traits in pre-malignant lesions. *Drug Resist Update.* **2011**, *14*, 212-223.
72. Ashburn, T. T., Thor, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Rev Drug Discov.* **2004**, *3*, 673-683.
73. Geng, Y., Kohli, L., Klocke, B. J., Roth, K. A. Chloroquine-induced autophagic vacuole accumulation and cell death in glioma cells is p53 independent. *Neuro Oncol.* **2010**, *12*, 473-481.

74. Kim, E. L., Wüstenberg, R., Ruübsam, A., Schmitz-Salue,C., Warnecke, G., Búcker, E. M., Pettkus, N., Speidel, D, Rohde, V., Schulz-Schaeffer, W., Deppert, W., Giese, A. Chloroquine activates the p53 pathway and induces apoptosis in human glioma cells. *Neuro Oncol.* **2010**, *12*, 389-400.
75. Sotelo, J., Briceño, E., López-González, M. A. Adding Chloroquine to Conventional Treatment for Glioblastoma Multiforme. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Ann Intern Med.* **2006**, *144*, 337-344.
76. Solomon,V. R., Lee, H. Chloroquine and its analogs: A new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies. *Eur J Pharmacol.* **2009**, *625*, 220-233.
77. Kim, R. H., Bold, R. J. and Kung, H.-J. ADI, autophagy and apoptosis. Metabolic stress as a therapeutic option for prostate cancer. *Autophagy.* **2009**, *5*, 567-568.
78. Sasaki, K., Tsuno, N. H., Sunami, E., Tsurita, G., Kawai, K., Okaji, Y. Nishikawa,T., Shuno, Y. Hongo, K., Hiyoshi, M., Kaneko, M., Kitayama, J., Takahashi, K., Nagawa, H. Chloroquine potentiates the anti-cancer effect of 5-fluorouracil on colon cancer cells. *Cancer.* **2010**, *10*, 370-380.
79. Fan, C., Wang, W., Zhao, B., Zhanga, S. and Miaoa, J. Chloroquine inhibits cell growth and induces cell death in A549 lung cancer cells. *Bioorgan Med Chem.* **2006**, *14*, 3218-3222.
80. Wang, Y., Peng, R. Q., Li, D. D., Ding, Y., Wu, X. Q., Zeng, Y. X., Zhu, X. F., Zhang, X. S. Chloroquine enhances the cytotoxicity of topotecan by inhibiting autophagy in lung cancer cells. *Chin J Cancer.* **2011**, *30*, 690-700.

81. Ramser, B., Kotot, A., Metze, D., Weib, N., Luger, T. A., Böhm, M. Hydroxychloroquine modulates metabolic activity and proliferation and induces autophagic cell death of human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol.* **2009**, *129*, 2419-2426.
82. Ding, W-Q., Liu, B., Vaught, J. L., Yamauchi, H., Lind, S. E. Anticancer Activity of the Antibiotic Clioquinol. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 3389-3395.
83. Du, T., Filiz, G., Caragounis, A., Crouch, P. J., White, A. R. Clioquinol Promotes Cancer Cell Toxicity through Tumor Necrosis Factor α Release from Macrophages. *J Pharmacol Exp Ther.* **2008**, *324*, 360-367.
84. Jiang, H., Taggart, J. E., Zhang, X., Benbrook, D. M., Lind, S. E., Ding, W-Q. Nitroxoline (8-hydroxy-5-nitroquinoline) is more a potent anti-cancer agent than clioquinol (5-chloro-7-iodo-8-quinoline). *Cancer Lett.* **2011**, *312*, 11-17.
85. Avendaño C. Síntesis de fármacos. Principios generales. En Introducción a la Química Farmacéutica, C. Avendaño (ed.), 1^a edición. Interamericana-McGraw-Hill, España, **1993**.
86. Domínguez, J. Chemotherapeutic agent against malaria: What next after Chloroquine?. *Curr Top Med Chem.* **2002**, *2*, 1171-1183.
87. Wiesner, J., Ortmann, R., Jomaa, H., Schlitzer, M. New antimalarial drugs. *Angew Chem Int Edit.* **2003**, *43*, 5274-5293.
88. Kouznetsov, V. V., Vargas, L. Y., Meléndez, C. Recent progress in the synthesis of quinolines. *Curr Org Chem.* **2005**, *9*, 141-161.

89. Delgado, A. Minguillón, C. Joglar, J. Introducción a la síntesis de Fármacos. Editorial Síntesis, S. A. Madrid. **2002**.
90. Denmark, S. E., Venkatraman, S. On the Mechanism of the Skraup-Doebner-Von Miller Quinoline Synthesis. *J Org Chem.* **2005**, *71*, 1668-1676.
91. Madapa, S., Tusi, Z., Batra, S. Advances in the syntheses of quinoline and quinoline-annulated ring Systems. *Curr Org Chem.* **2008**, *12*, 1116-1183.
92. Madrid, P. B., Serrill, J., Liou, A. P., Weisman, J. L., DeRisi, J. L., Guy, K. Synthesis of ring-substituted 4-aminoquinolines and evaluation of their antimalarial activities. *Bioorg Med Chem Lett.* **2005**, *15*, 1015-1018.
93. Joshi, A. A., Narkhede, S. S., Viswanathan, C. L. Design, synthesis and evaluation of 5-substituted amino-2,4-diamino-8-chloropyrimido-[4,5-*b*]quinolines as novel anti-malarials. *Bioorg Med Chem Lett.* **2005**, *15*, 73-76.
94. Madrid, P. B., Wilson, N. T., DeRisi, J. L., Guy, R. K. Parallel Synthesis and antimalarial screening of a 4-aminoquinoline library. *J Comb Chem.* **2004**, *6*, 437-442.
95. Faruk Khan, M. O., Levi, M. S., Tekwani, B. L., Wilson, N. H., Borne, R. F. Synthesis of isoquinuclidine analogs of chloroquine: Antimalarial and antileishmanial activity. *Bioorgan Med Chem.* **2007**, *15*, 3919-3925.
96. Casagrande, M., Basilico, N., Parapini, S., Romero, S., Taramelli, D. Novel amodiaquine congeners as potent antimalarial agents. *Bioorgan Med Chem.* **2008**, *16*, 6813-6823.
97. Milner, E., McCalmont, W., Bhonsle, J., Caridha, D., Carroll, D., Gardner, S., Gerena, L.; Gettayacamin, M., Lanteri, Ch., Luong, T., Melendez, V., Moon, J., Roncal, N., Sousa, J.,

- Tungtaeng, A., Wipf, P., Dow, G. Structure-activity relationships amongst 4-position quinoline-methanol antimalarials that inhibit the growth of drug sensitive and resistant strains of *Plasmodium falciparum*. *Bioorgan Med Chem Lett.* **2010**, *20*, 1347-1351.
98. Solomon, V. R., Hu, C., Lee, H. Design and synthesis of chloroquine analogs with anti-breast cancer property. *Eur J Med Chem.* **2010**, *45*, 3916-3923.
99. Suzuki, T., Fukasawa, N., San-nohe, K. Structure-activity relationship of newly synthesized quinoline derivatives for reversal of multidrug resistance in cancer. *J Med Chem.* **1997**, *40*, 2047-2052.
100. Mesa, A., Molano, P. A., Seon, B., Figadere, B., Robledo, S. M., Muñoz, D. L., Sáez, J. A. Síntesis y actividades leishmanicida y citotóxica *in vitro* de análogos 2-arilquinolinas. *Rev Fac Quim Farm.* **2008**, *15*, 259-266.
101. Carvalho, R., Veras, L., Odoico, M., do Ó, C., Rocha, F., de Lima, M., Cataldi, C., Roland, C., Nora, M., 1-(7-chloroquinolin-4-yl)-2-[(1H-pyrrol-2-yl)methylene]hydrazine: a potent compound against cáncer. *Med Chem Res.* **2011**, DOI: 10.1007/s00044-011-9894-8.
102. Bindu, P. Jp., Mahadevan, K. M., Satyanarayan, N. D., Ravkumar, T. R. Synthesis and DNA cleavage studies of novel quinoline esters. *Bioorg Med Chem Lett.* **2012**, *22*, 898-900.
103. Kumar, S. K., Kiran Kumar, S., Yogi Sreenivas, B., Rao Gorja, D., Kapavarapu, R., Rambabu, D., Rama Krishna, G., Malla Reddy, C., Basaveswara Rao, M. V., Parsa, K. V. L., Pal, M. C–C bond formation at C-2 of a quinoline ring: Synthesis of 2-(1H-indol-3-

- yl)quinoline-3-carbonitrile derivatives as a new class of PDE4 inhibitors. *Bioorgan Med Chem.* **2012**, *20*, 2199-2207.
104. Majahan, A., Yeh, S., Nell, M., van Rensburg, C. E. J., Chibale, K. Synthesis of new 7-chloroquinolinyl thioureas and their biological investigation as potential antimalarial and anticancer activity. *Bioorg Med Chem Lett.* **2007**, *17*, 5683-5685.
105. Onyeibor, O., Croft, S. L., Dodson, H. I., Feiz-Haddad, M., Kendrick, H., Millington, N., Parapini, S., Phillips, R. M., Seville, S., Shnyder, S. D., Taramelli, D., Wright, C. W. Synthesis of some cryptolepine analogues, assessment of their antimalarial and cytotoxic activities, and consideration of their antimalarial mode of action. *J Med Chem.* **2004**, *48*, 2701-2709.
106. Cheng, M. Theander, T. G., Chistensen, S. B., Hviid, L., Zhai, L., Kharazmi, A. Licochalcone A, a new antimalarial agents, inhibits *in vitro* growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelli* infection. *Antimicrob Agent Chemother.* **1994**, *38*, 1470-1475.
107. Anto, R. J., Kuttan, K. S. G., Rao, M. N. A., Subbaraju, V., Kuttan, R. Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer Lett.* **1995**, *97*, 33-37.
108. Zheng-Yu Yang, Y. X., Kenneth F., P. X., , Yuka Nakanishi, B., Lee, K-H. Antitumor agents. Part 202: Novel 2'-amino chalcones: design, synthesis and biological evaluation. *Bioorg Med Chem Lett.* **2000**, *10*, 699-701.
109. Barreiro, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. *Quim Nova.* **2002**, *25*, 1172-1180.

110. Menéndez, J. C., Avendaño, C. Optimización de un prototipo. Correlaciones cualitativas estructuras químicas-actividad biológica. En introducción a la Química Farmacéutica, C. Avendaño (ed.), 2ª edición. McGraw-Hill/Interamericana DE España, SAU, **2001**.
111. Galbis Pérez, J. A. Panorama actual de la Química Farmacéutica. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla. **2004**.
112. The practice of Medicinal Chemistry. C. G. Wermuth (Ed.). Academic Press, London. **2001**.
113. Lombard, M. C.; N'Da, D. D.; Breytenbach, J. C.; Smith P. J.; Lategan, C. A. Synthesis, in vitro antimalarial and cytotoxicity of artemisinin-aminoquinoline hybrids. *Bioorg Med Chem Lett*. **2011**, *21*, 1683-1686.
114. Walsh, J. J., Coughlan, D., Henegan, N., Gaynor, C., Bell, A. A novel artemisinin-quinine hybrid with potent antimalarial activity. *Bioorg Med Chem Lett*. **2007**, *17*, 3599-3602.
115. Kumar, A., Srivastava, K., Raja Kumar, S., Puri, S. K., Chauhan P. M. S. Synthesis of new 4-aminoquinolines and aminoquinoline-acridine hybrids as antimalarial agents. *Bioorg Med Chem Lett*. **2010**, *20*, 7059-7063.
116. Camacho, J., Barazarte, A., Gamboa, N., Rodrigues, J., Vaisberg, A., Gilman R., Charris, J. Synthesis and biological evaluation of benzimidazole-5-carbohydrazide derivatives as malarial, cytotoxic and antitubercular agents. *Bioorgan Med Chem*. **2011**, *19*, 2023-2029.

117. Barazarte, A., Lobo, G., Gamboa, N., Rodrigues, J., Caprarelli, M., Álvarez-Larena, A., López, S., Charris, J. Synthesis and antimalarial activity of pirazolo and pyrimido benzothiazine dioxide derivatives. *Eur J Med Chem.* **2009**, *44*, 1303-1310.
118. Barazarte, A., Camacho, J., Domínguez, J., Lobo, G., Gamboa, N., Rodrigues, J., Caprarelli, M., Álvarez-Larena, A., Andujar, S., Enriz, D., Charris, J. Synthesis, antimalarial activity, structure-activity relationship analysis of thieno [3,2,b]-S,S-dioxide analogs. *Bioorgan Med Chem.* **2008**, *16*, 3661-3664.
119. Lobo, G., Camacho, J., Gamboa, N., Rodrigues, J., Blache, Y., Atencio, R., González, T., Charris, J. Síntesis de 4-cloro-3-(2-cloroetil)-2-metilquinolinas. Evaluación de su potencial actividad antimalárica *in vitro*. *Revista de la Facultad de Farmacia UCV.* **2008**, *71*, 34-41.
120. León, C., Rodríguez, J., Gamboa, N., Charris, J., Gut, J., Rosenthal, P., Domínguez, J. Synthesis and evaluation of sulfonyleurea derivatives as novel antimalarials. *Eur J Med Chem.* **2007**, *42*, 735-742.
121. Charris, J.; Solana, M., Domínguez, J., Lobo, G., Barazarte A., Gamboa, N., Rodríguez, J., Monasterios, M., Angel, J., Migliore, B. Síntesis y evaluación como antimaláricos de derivados del ácido tieno-[2,3-b]quinolina-2-carboxílico. *Ciencia.* **2007**, *15*, 109-119.
122. Domínguez, J., León, C., Rodríguez, J., Gamboa, N., Charris, J., Gut, J., Rosenthal, P., Síntesis y actividad antimalarica de nuevas isoflavonas. *Revista de Investigación UPEL.* **2006**, *60*, 65-80.
123. Caprarelli, M., Charris, J., Domínguez, J. Structures of two N-methylated tricyclic quinolones with antimalarial activity. *J Chem Crystallogr.* **2006**, *36*, 389-398.

124. Charris, J., Domínguez, J., Gamboa, N., Rodríguez, J., Angel, J. Synthesis and antimalarial activity of E-2-quinolinylbenzocycloalcanones. *Eur J Med Chem.* **2005**, *40*, 875-881.
125. Domínguez, J., León, C., Rodríguez, J., Gamboa, N., Gut, J., Rosenthal, P., Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalcone derivatives. *Il Farmaco.* **2005**, *60*, 307-311.
126. Domínguez, J., León, C., Rodríguez, J., Gamboa, N., Gut, J., Rosenthal, P. Synthesis and evaluation of new antimalarial phenylurenyl chalcone derivatives. *J Med Chem.* **2005**, *48*, 3654-3658.
127. Domínguez, J., Charris, J., Lobo, G., Gamboa, N., Moreno, M., Riggione, F., Sánchez, E., Olson, J., Rosenthal, P. Synthesis of quinolinyl chalcones and evaluation of their antimalarial activity. *Eur J Med Chem.* **2001**, *36*, 555-560.
128. Charris, J., Camacho, J., Barazarte, A., Domínguez, J., López, S., Boykin, D. Synthesis of 2,5-bis-[4-(benzhydrazido)-phenyl]furans and evaluation of the antimalarial, trypanocidal and cytotoxic activities. *Heterocycl Comm.* **2004**, *2-3*, 157-162.
129. Charris, J., Domínguez, J., Cordero, M. I., Orfila, L., Riggione, F., López, S., Eiriz, D., Suviere, F. Síntesis of 3-amino-2-etoxycarbonyl pyrido [1,2-a]thieno[2,3-d]-4-pyrimidone derivatives and their antimalarial and cytotoxic activities in vitro. *Heterocycl Comm.* **2000**, *6*, 571-578.
130. Domínguez, J., López, S., Charris, J., Iarrusso, L., Lobo, G., Semenov, A., Olson, J., Rosenthal, P. Synthesis and antimalarial effects of phenothiazine inhibitors of a Plasmodium falciparum Cysteine Protease. *J Med Chem.* **1997**, *40*, 2726-2732.

131. Domínguez, J., Basante, W., Charris, J., Riggione, F., Synthesis and activity of some quinolone derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Il Farmaco*. **1996**, *51*, 407-412.
132. Rodríguez, J. R. Charris, J., Ferrer, R., Gamboa, N., Angel, J. Nitzsche, B., Hoepfner, M., Lein, M., Jung, K., Abramjuk, C. Effects of quinolinyl acrylate derivatives on prostate cancer in vitro and in vivo. *Invest New Drugs*. **2012**, *30*, 1426-1433.
133. Ferrer R, Lobo G, Gamboa N, Rodrigues J, Abramjuk C, Jung K, Lein M., Charris J. Synthesis of [(7-Chloroquinolin-4-yl)amino]chalcones: Potential Antimalarial and Anticancer Agents. *Sci Pharm*. **2009**, *77*, 725-741.
134. Guantai, E. M., Ncokazi, K., Egan, T. J., Gut, J., Rosenthal, P. J., Bhampidipati, R., Kopinathan, A., Smith, P. J., Chibale, K. Enone-and Chalcone-Chloroquinoline Hybrid Analogues: In Silico Guided Design, Synthesis, Antiplasmodial Activity, in Vitro Metabolism, and Mechanistic Studies. *J Med Chem*. **2011**, *54*, 3637-3649.
135. Azarifar, D., Shaebanzadeh, M. Synthesis and characterization of new 3, 5-dinaphthyl substituted 2-pyrazolines and study of their antimicrobial activity. *Molecules*. **2002**, *7*, 885-895.
136. Shelke, S. N., Mhaske, G. R., Bonifácio, V. D. B., Gawande, M. B. Green synthesis and anti-infective activities of fluorinated pyrazoline derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*. **2012**, *22*, 5727-5730.
137. Albay, C., Kahriman, N., Yilmaz, N., Alpay, Ş., Yayly, N. Synthesis and antimicrobial activity of methoxy azachalcones and N-alkyl substituted methoxy azachalconium bromide. *Turk J Chem*. **2011**, *35*, 441-454.

138. Yayli, N., Misir, G., Yayli, N., Yaşar, Demir, E., Demirbağ. Synthesis and antimicrobial substituted p-methyl (E)-3- and 4-azachalconium activity of N-alkyl bromides. *Turk J Chem.* **2010**, *34*, 219-228.
139. Murthy, Y. L. N., Kasi viswananth, I. V., Nageswar pandit, E. Synthesis, characterization & antibacterial activity of 7, 4'-dihydroxy, 3'-methoxy flavones. *I J Chem Tesch Res.* **2010**, *2*, 1097-1101.
140. Čurillová, Z., Kutschy, P., Solčaniová, E., Pilatová, M., Mojžiš, J., Kovačik V. Synthesis and antiproliferative activity of 1-methoxy-, 1-metoxi (α -D-ribofuranosyl)-and-(β -D-ribofuranosil)bransessin B. *Arkivoc.* **2008**, *viii*, 85-104.
141. Alam, S., Jalil Miah, M. A., Islam, A. Synthesis and biological activity of 7-benzyloxy and 7-methoxy flavones. *Pak J Sci Ind Res.* **2007**, *50*, 80-84.
142. Khalilullah, H., Khan, S., Ahsan, M. J., Ahmed, B. Synthesis and antihepatotoxic activity of 5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxane-6-yl)-3-substituted-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.* **2011**, *21*, 751-7254.
143. Bonesi, M., Loizzo, M. R., Statti, G. A., Michel, S., Tillequin, F., Menichini, F. The synthesis and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitory activity of chalcones and their pyrazole derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.* **2010**, *20*, 1990-1993.
144. Jeong, T-S., Kim, K., An, S-J., Cho, K. H., Lee, S., Lee, W. S. Novel 3,5-diaryl pyrazolines as human acyl-CoA:cholesterol acyltransferase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* **2004**, *14*, 2715-2717.

145. Aboraia, A. S., Makwoski, B., Bahja, A., Prosser, D., Bracale, A., Jones, G., Simons, C. Synthesis and CYP24A1 inhibitory activity of (*E*)-2-(2-substituted benzylidene)-and 2-(2-substituted benzyl)-6-methoxy-tetralones. *Eur J Med Chem.* **2010**, *45*, 4427-4434.
146. Baelmans, R., Deharo, E., Muñoz, V., Sauvain, M. and Ginsburg, H. Experimental conditions for testing the inhibitory activity of Chloroquine on the formation of β -Hematin. *J Exp Parasitol.* **2000**, *96*, 243-248.
147. Ginsburg, H., Famin, O., Zhang, J., Krugliak, M. Inhibition of glutathione-dependent degradation of heme by chloroquine and amodiaquine as a possible basis for their antimalarial mode of action. *Biochem Pharmacol.* **1998**, *56*, 1305-1313.
148. Egan, T. J. Haemozoin Formation as a Target for the Rational Design of New Antimalarials. *Drug Desing Rev.* **2004**, *1*, 93-110.
149. Peters, W. Robinson, B. L. *En Handbook of Animal Models of Infection: Experimental Models in Antimicrobial Chemotherapy.* Zack, O, Sande, M. Eds. Academic Press, London, UK **1999**.
150. Amaro, M. I., Monasterios, M., Avendaño, M. Charris, J. Preliminary evaluation of the toxicity of some synthetic furan derivatives in two cell lines and *Artemia salina*. *J App Toxicol.* **2009**, *29*, 36-41.
151. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* **1983**, *65*, 55-63.
152. Vermes, I., Haanen, C., Steffens-Nakken, H. and Reutelingsperger, C. A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early

- apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. *J Immunol Methods*. **1995**, *184*, 39-51.
153. McCabe, M. J., Singh, K. P., Reddy, S. A., Chelladurai, B., Pounds, J. G., Reiners, J. J. Sensitivity of myelomonocytic leukemia cells to arsenite-induced cell cycle disruption, apoptosis, and enhanced differentiation is dependent on the inter-relationship between arsenic concentration, duration of treatment, and cell cycle phase. *J Pharmacol Exp Ther*. **2000**, *295*, 724-733.
154. Gupta, S., Afaq, F., Mukhtar, H. Involvement of nuclear factor-kappa B, Bax and Bcl-2 in induction of cell cycle arrest and apoptosis by apigenin in human prostate carcinoma cells. *Oncogene*. **2002**, *21*, 3727-3738.
155. Subhashini, J., Mahipal, S. V. and Reddanna, P. Anti-proliferative and apoptotic effects of celecoxib on human chronic myeloid leukemia in vitro. *Cancer Lett*. **2005**, *224*, 31-43.
156. Callacondo-Riva, D., Quispe-Mauricio, A., Lindo-Gamarra, S., Vaisberg, A. J. Actividad citotóxica del extracto de *Gnaphalium spicatum* "Keto Keto" en cultivos de líneas celulares tumorales humanas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. **2008**, *25*, 380-385.
157. Nantasenamat, C., Tantimongvolwat, T., Naema, T., Isarankura-Na-Ayudhya, C., Prachayasittikul, V. Prediction of selectivity index of pentachlorophenol-imprinted polymers. *EXCLI J*. **2006**, *5*, 150-163.
158. Protopopova, M., Hanrahan, C., Nikonenko, B., Samala, R., Chen, P., Gearhart, J., einnk, L., Nancy, C. *J Antimicrob Chemoth*. **2005**, *56*, 968-974.

159.Lugli, E., Troiano, L., Ferraresi, R., Roat, E., Prada, N., Nasi, M. Characterization of cells with different mitochondrial membrane potential during apoptosis *Cytometry A*. **2005**, *68*, 28-35.

160.Lee, T. J., Kim, O. H., Kim, Y. H., Lim, J.H., Kim, S., Park, J. W. Quercetin arrests G2/M phase and induces caspase-dependent cell death in U937 cells. *Cancer Lett.* **2006**, *240*, 234-242.

ANEXOS
