

Avance de la síntesis de algunos derivados 3-aryl-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido. Efectos sobre la falcipaina

Advance of the synthesis of some 3-aryl-4H-1,4-benzothiazine- 1,1-dioxide derivatives. Effects on falcipain

GRICELA M. LOBO¹, JOSÉ N. DOMÍNGUEZ¹, SANTIAGO R. LORA¹,
JAIME E. CHARRIS¹, JOSÉ R. CAMACHO¹ Y PHILLIP ROSENTHAL²

Resumen

Se preparó una nueva serie de derivados de 3-aryl-4H-1,4-benzotiazina 1,1-dióxido **3a-e**. Estos compuestos se obtuvieron por la reacción de oxidación de la correspondiente 4H-1,4-benzotiazina **2a-e** con peróxido de hidrógeno en ácido acético. Las 4H-1,4-benzotiazinas **2a-e** se sintetizaron empleando 2-aminotiofenol y derivados de 2-bromoacetofenonas como materiales de partida. La actividad antimalárica de los compuestos fue determinada por medio de la evaluación de su capacidad de inhibir la *falcipaina*.

Palabras clave: Síntesis, 4H-1,4-benzotiazina, *falcipaina*.

Abstrac

A new series of 3-aryl-4H-1,4-benzothiazine 1,1-dioxide derivatives **3a-e** was prepared. These compounds were obtained by oxidation reaction with hydrogen peroxide in acetic acid of the corresponding 4H-1,4-benzothiazine **2a-e**. The 4H-1,4-benzothiazines were synthesized employing 2-aminothiophenol and 2-bromoacetophenone derivatives **2a-e** as starting material. The antimalarial activity of those compounds was determined by means of the evaluation of its capacity to inhibit the *falcipain*.

Key words: Synthesis, 4H-1,4-benzothiazine, *falcipain*.

Introducción

El *Plasmodium falciparum* causa la forma más severa de malaria humana, provoca alrededor de 80% de los casos y aproximadamente 90% de las muertes (Pan American Health Organization, 2005). La resistencia del *Plasmodium* a los fármacos antimaláricos disponibles como la cloroquina, amodiaquina y sulfadoxina-pirimetamina es un grave problema que está en ascenso (Cox-Singh 1995, Méndez 2005). Por consiguiente, la investigación de quimioterapias nuevas para bloquear las vías metabólicas de los parásitos constituye una necesidad inminente.

Una de estas investigaciones consiste en identificar las enzimas que cumplen un papel esencial en el ciclo de vida del parásito. Se ha identificado una serie de proteasas específicas del parásito implicadas en las etapas cruciales del desarrollo del *Plasmodium*, incluyendo proteólisis de la hemoglobina (las hemoglobinasas), liberación de merozoitos, y/o invasión de nuevas células rojas por estos merozoitos (Klemba 2002, Eksi 2004). En *P. falciparum* se han distinguido las *plasmepsinas*, una aspartato proteasa (Banerjee 2002, Liu 2005); la *falcipaina*, una cisteína proteasa (Rosenthal, 1988, Shenai 2001) y la *falcilisina*, una metaloproteasa (Eggkson 1999).

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Aptdo. 47206, Los Chaguaramos 1041- A, Caracas, Venezuela.

² Department of Medicine, San Francisco General Hospital, University of California, San Francisco, California, USA.

La *falcipaína* es requerida para la degradación de la hemoglobina a los aminoácidos correspondientes para ser utilizados como fuente para la síntesis de proteínas por parte del parásito; la inhibición de este proceso resulta letal. Igualmente, proteínas del eritrocito también son degradadas durante el proceso de invasión y ruptura (González 2005). Inhibidores de estas enzimas constituyen blancos potenciales antimaláricos y se han realizado numerosos estudios con el fin de intentar identificar inhibidores exclusivos que sean activos en modelos murinos de la enfermedad (Rosenthal 1998, 2004). Entre los blancos potenciales para la búsqueda de nuevos agentes antimaláricos se encuentran los inhibidores específicos de la *falcipaína*. Así por ejemplo se han descrito una serie de vinil sulfonas peptídicas **1** (figura 1) (Rosenthal 1996), que son inhibidores de la *falcipaína* y presentan una elevada actividad *in vitro*, aunque presentan limitaciones debido a su toxicidad y propiedades farmacocinéticas, como inestabilidad al pH fisiológico del grupo peptídico (Rosenthal 2002). Debido a estas limitaciones, surgió la necesidad de desarrollar estructuras más estables que contengan el grupo vinil sulfona ($R-HC=CHSO_2$). Como resultado de esta exploración, se ha reportado la síntesis de derivados de benzotiazina-2-ona-1,1-dióxido **2**, que mostraron importante actividad inhibitoria *in vitro* de *falcipaína* (Dominguez 1997). Continuando con esta investigación, en este trabajo se reporta un avance de la síntesis de derivados de 3-aril-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido **3** y su efecto sobre la *falcipaína* de cepas resistentes a la cloroquina.

Materiales y métodos

QUÍMICO

Los puntos de fusión de los sólidos obtenidos fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y están sin corregir. Los espectros de infrarrojo (IR) se tomaron usando pastillas de KBr, en un espectrofotómetro Shimadzu 470; las absorciones más

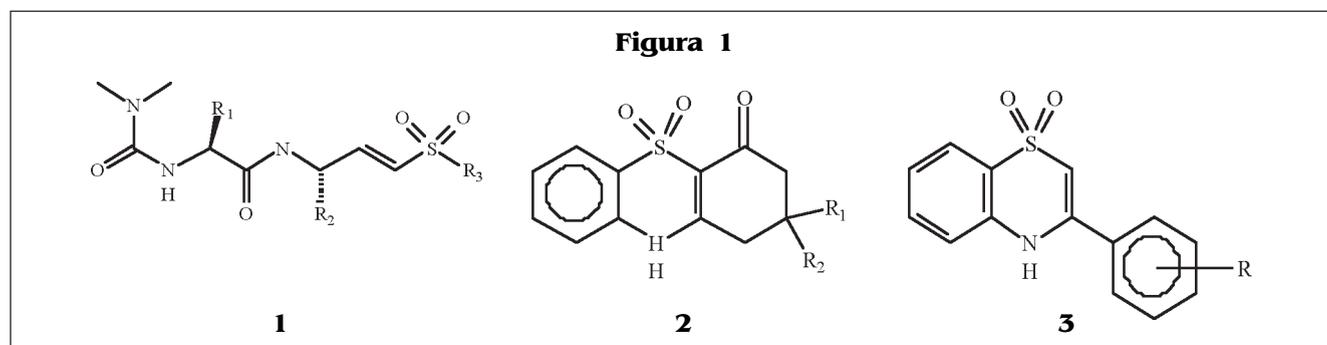
importantes son señaladas y designadas en cm^{-1} . Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protones y carbono 13 (1H RMN, ^{13}C RMN) fueron registrados en un espectrómetro JEOL Eclipse 270 Mhz. El desplazamiento químico (δ) está reportado en ppm con relación al $CHCl_3$ y DMSO residual como referencia interna. El complejo hidrobromuro piridinio fue preparado de acuerdo con un procedimiento reportado (Kröhnke, 1963). Los reactivos 2-amino-1-fenol, tiocianato de amonio y las diferentes acetofenonas fueron obtenidos de Aldrich Chemical Co. Milwaukee, USA.

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS BROMOACETOFENONAS (**1a-e**)

A una solución de la acetofenona correspondiente (2 mmoles) en ácido acético (2 mL) se le añadió en pequeñas porciones y con agitación el complejo bromuro de piridinio (2.2 mmoles). Terminada la adición del complejo se dejó agitando a temperatura ambiente por varias horas y se siguió la reacción por cromatografía de capa fina hasta que se consumió la acetofenona de partida. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo, el sólido formado se filtró y lavó con abundante agua fría y se dejó secando al aire y se obtuvo un sólido limpio para el que no fue necesaria posterior recristalización. El espectro de 1H RMN para cada compuesto se ajustó sin duda alguna con la estructura esperada.

2-bromoacetofenona 1a. Rendimiento: 95%, pf: 50-52 °C, reportado: 49-50 °C. IR cm^{-1} : 1684(C=O). RMN 1H ($CDCl_3$) δ ppm: 7.97 (m, 2H, ar.), 7.85-7.82 (m, 2H, ar.), 7.65-7.61 (m, 1H, ar.), 4.38 (s, 2H, CH_2). RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm: 190.00, 134.90, 129.80, 32.00.

4-bromo-2-bromoacetofenona 1b. Rendimiento: 68%, pf: 110-112 °C, reportado: 111°C, IR cm^{-1} : 1680(C=O). RMN 1H ($CDCl_3$) δ ppm: 7.82 (d, 2H, J=8.66 Hz, ar), 7.68 (d, 2H, J=8.66 Hz, ar.), 4.39 (s, 2H, CH_2). RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ ppm: 191.20, 133.00, 130.20, 129.90, 31.50.



4-cloro-2-bromoacetofenona 1c. Rendimiento: 75%, pf: 94-96 °C, Reportado: 97 °C. IR cm^{-1} : 1680(C=O). RMN ^1H (CDCl_3) δ ppm: 7.85 (*d*, 2H, $J=8.03$ Hz, ar), 7.64 (*d*, 2H, $J=8.03$ Hz, ar), 4.38 (*s*, 2H, CH_2). RMN ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 190.00, 130.50, 130.12, 129.90, 31.50.

3,4-dicloro-2-bromoacetofenona 1d. Rendimiento: 80%, pf: 44-46 °C. Reportado 54-55 °C. IR cm^{-1} : 1680(C=O); RMN ^1H (CDCl_3) δ ppm: 8.10 (*d*, 1H, $J=2.70$ Hz, ar.), 7.84 (*d*, 1H, $J=8.06$ Hz, ar.), 7.86 (*d*, 1H, $J=2.70$ Hz, ar.), 4.38 (*s*, 2H, CH_2). RMN ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 191.00, 136.50, 135.45, 133.07, 132.95, 129.50, 31.75.

4-metil-2-bromoacetofenona 1e. Rendimiento: 68%. Pf: 50-52 °C, reportado: 48-51 °C. IR cm^{-1} : 1680 (C=O); RMN ^1H (CDCl_3) δ ppm: 7.86 (*d*, 2H, $J=8.06$ Hz, ar), 7.37 (*d*, 2H, $J=8.06$ Hz ar), 4.38 (*s*, 2H, CH_2). RMN ^{13}C (CDCl_3) δ ppm: 190.00, 145.50, 131.20, 129.40, 128.80, 32.10, 22.00.

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS DE 3-ARIL-1,4-BENZOTIAZINAS (**2a-e**)

A una solución de hidróxido de sodio (4 mmoles) en metanol seco (10 mL), 2-aminotiofenol (2 mmoles) se agregó la respectiva 2-bromo acetofenona **1a-e** (2 mmoles) y se dejó bajo reflujo por 24 horas, o hasta que se formó un sólido anaranjado indicando la formación del producto. El sólido se filtró y recristalizó en una mezcla EtOH/DMF. Los datos espectroscópicos de cada uno de los compuestos concordaron con las estructuras esperadas **2a-e**.

3-fenil-4H-1,4-benzotiazina 2a. Rendimiento: 80%, pf: 220-222 °C; IR cm^{-1} : 3408 (NH). RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 11.49 (*sa*, 1H, NH), 7.77-7.35 (*m*, 8H, $\text{H}_{6-8,10-14}$), 6.97 (*d*, 1H, $J=8.03$ Hz, H_5), 5.73 (*s*, 2H, H_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ : 160.00, 142.12, 130.02, 128.40, 127.50, 125.00, 115.00, 122.00, 107.00. m/z : 225(M^+), 70%.

3-(4-bromofenil)-4H-1,4-benzotiazina 2b. Rendimiento: 75%, pf: 218-220 °C; IR cm^{-1} : 3450 (NH); RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 11.48 (*sa*, 1H, NH), 7.83-7.82 (*m*, 3H, $\text{H}_{8,11,13}$), 7.29 (*d*, 2H, $J=8.02$ Hz, $\text{H}_{10,14}$), 7.28-7.12 (*m*, 2H, $\text{H}_{6,7}$), 6.81 (*d*, 1H, $J=8.01$ Hz, H_5), 5.72 (*s*, 1H, H_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ ppm: 157.89, 142.22, 131.10, 129.94, 127.90, 126.17, 125.60, 121.89, 121.20, 115.15, 107.40. m/z : 306($\text{M}^+ + 2$), 25%.

3-(4-clorofenil)-4H-1,4-benzotiazina 2c. Rendimiento: 90%, pf: 256-258 °C, IR cm^{-1} : 3450(NH); RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 11.48 (*sa*, 1H, NH), 7.85 (*d*, 1H, $J=7.89$ Hz, H_8), 7.55 (*d*, 2H, $J=8.06$ Hz, $\text{H}_{11,13}$), 7.35 (*d*, 1H, $J=8.06$ Hz, $\text{H}_{10,14}$), 7.26-7.16 (*m*, 2H,

$\text{H}_{7,8}$), 6.81 (*d*, 1H, $J=8.06$ Hz, H_5). RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ ppm: 162.00, 133.12, 130.00, 129.80, 128.00, 122.13, 114.50, 107.40; m/z : 260($\text{M}^+ + 1$), 15%.

3-(3,4-diclorofenil)-4H-1,4-benzotiazina 2d. Rendimiento: 85%, pf: 280-284 °C, IR cm^{-1} : 3450(NH); RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 7.87(*dd*, 1H, $J=8.06$ Hz, H_8), 7.64 (*d*, 1H, $J=8.06$ Hz, H_{13}), 7.50 (*d*, 1H, $J=2.07$ Hz, H_{10}), 7.42-7.12 (*m*, 3H, $\text{H}_{6,7,8}$), 6.81 (*d*, 1H, $J=8.06$ Hz, H_5), 5.75 (*s*, 1H, H_2); RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ ppm: 156.12, 142.12, 132.90, 130.80, 130.65, 127.92, 125.01, 122.00, 117.60, 115.55, 107.37. m/z : 296($\text{M}^+ + 2$), 10%.

3-(4-metilfenil)-4H-1,4-benzotiazina 2e. Rendimiento: 80%, pf: 242-246 °C; IR cm^{-1} : 3450(NH); RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 11.87 (*sa*, 1H, NH), 7.85 (*d*, 1H, $J=8.03$ Hz, H_8), 7.58 (*d*, 2H, $J=8.03$ Hz, $\text{H}_{11,13}$), 7.29-7.12 (*m*, 5H, $\text{H}_{6,7,10,14}$), 6.81 (*d*, $J=8.03$ Hz, H_5), 5.73 (*s*, 1H, H_2), 2.35 (*s*, 3H, CH_3). RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ ppm: 159.45, 142.22, 138.60, 129.09, 127.90, 125.60, 122.90, 121.89, 117.46, 107.37, 22.00. m/z : 139(M^+), 100%.

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE 3-ARIL-(4H)-1,4-BENZOTIAZINA-1,1-DIÓXIDO **3a-e**

A una solución de la 3-aryl-benzotiazina **2a-e** (0.5 mmoles) en ácido acético (1 mL) en reflujo se le adicionaron porciones (0.1 mL) de peróxido de hidrógeno hasta completar 1 mL y se dejó bajo agitación hasta la aparición de un sólido que advirtió la formación del producto. El sólido se filtró y recristalizó con una mezcla de EtOH/DMF, obteniéndose los compuestos deseados **3a-e**.

3-fenil-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3a. Rendimiento: 75%, pf: 248-250 °C, IR cm^{-1} : 3280(NH), 1500(SO_2), 1460(SO_2); RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 7.79-7.35 (*m*, 8H, $\text{H}_{6-8,10-14}$), 6.97 (*d*, 1H, $J=7.99$ Hz, H_5), 6.32 (*s*, 1H, H_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ ppm: 159.98, 135.13, 131.20, 130.53, 130.18, 127.12, 126.48, 124.01, 123.90, 123.55, 113.98, 96.00; m/z : 259 ($\text{M}^+ - 1$), 10%.

3-(4-bromofenil)-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3b. Rendimiento: 87%, pf: 230-232 °C. IR cm^{-1} : 3250(NH), 1485(SO_2), 1459(SO_2). RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 13.08 (*sa*, 1H, NH), 7.87 (*d*, 2H, $J=8.06$ Hz, $\text{H}_{11,13}$), 6.97 (*d*, 1H, $J=8.03$ Hz, H_5), 6.30 (*s*, 1H, H_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6) δ ppm: 160.01, 135.13, 128.99, 124.08, 123.59, 121.20, 114.60, 95.80. m/z : 338 ($\text{M}^+ + 2$), 15%.

3-(4-clorofenil)-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3c. Rendimiento 80%, pf: 220-224 °C, IR cm^{-1} : 3250(NH), 1483(SO_2), 1450(SO_2), RMN ^1H (DMSO-d_6) δ ppm: 7.65-7.54 (*m*, 7H, $\text{H}_{6-8,10-14}$), 6.97 (*d*, 1H,

$J=8.06$ Hz, H_5), 6.32 (s, 1H, H_2). RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ ppm: 159.9, 135.13, 131.20, 131.00, 130.18, 129.78, 123.90, 131.92, 114.50, 95.8. m/z : 291(M^+), 50%

3-(3,4-diclorofenil)-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3d. Rendimiento: 75%. pf: 284-286 °C. IR cm^{-1} : 3250(NH), 1464(SO_2), 1440(SO_2). RMN 1H (DMSO- d_6) δ ppm: 7.70-7.54 (m, 3H, H_{10-14}), 7.39-7.35 (m, 3H, H_{6-8}), 7.00 (d, 1H, $J=7.98$ Hz, H_5), 6.30 (s, 1H, H_2), RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ ppm: 160.12, 134.91, 133.20, 131.53, 128.92, 126.51, 123.13, 124.6, 123.59, 114.60, 95.8(C_2). m/z : 327($M^+ + 1$), 10%.

3-(4-metilfenil)-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3e. Rendimiento: 79%. Pf: 247-250 °C, IR cm^{-1} : 3250(NH), 1488(SO_2), 1449(SO_2). RMN 1H (DMSO- d_6) δ ppm: 7.65-7.35 (m, 7H, $H_{6-8,10,11,13,14}$), 6.97 (d, 1H, $J=8.03$, H_5), 6.32(s, 1H, H_2), 2.38(s, 3H, CH_3). RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ ppm: 158.9, 138.2, 135.1, 130.1, 129.7, 125.5, 124.0, 114.6, 95.8, 21.1. m/z : 271(M^+), 80%.

EFECTOS SOBRE LA FALCIPAÍNA

La actividad inhibitoria de los compuestos sintetizados sobre la falcipaina presente en los extractos de trofozoitos de *P. plasmodium* fue realizada de acuerdo con el procedimiento de (Rosenthal y col. 1996). Los extractos contentivos de la falcipaina fueron inoculados en una mezcla que contiene buffer acetato 0.1 M pH 5.5, ditiotreitól (30 nM), y diferentes concentraciones de los compuestos de la serie **3a-e** preparadas a partir de una solución patrón disuelta en DMSO. Las mezclas fueron incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente antes de agregar el sustrato fluorescente peptídico Z-Phe-Arg-AMC. Los experimentos para evaluar la actividad sobre la falcipaina de los compuestos **3a-e** a diferentes concentraciones, fueron realizados por triplicado. El valor de IC_{50} de cada compuesto se muestra en la Tabla I.

Tabla I
Efectos de 3-aril-4H-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3a-e sobre falcipaina

Compuesto	R	IC_{50} (mM)
3a	H	>10
3b	4-Br	10
3c	4-Cl	10
3d	3,4-(Cl) $_2$	1,98
3e	4-CH $_3$	>10

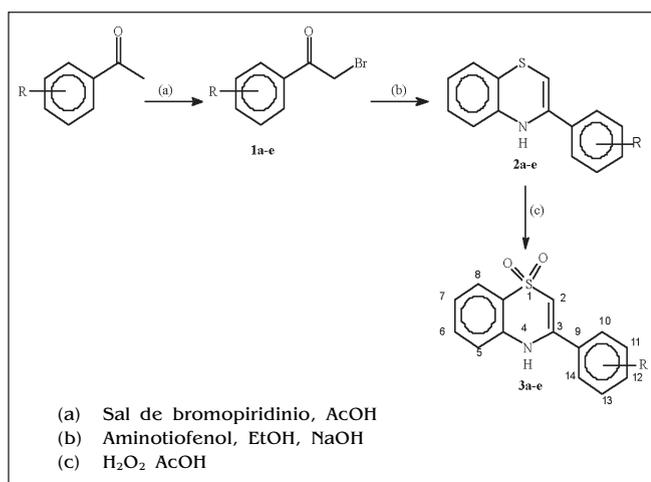
Resultados y Discusión

PARTE QUÍMICA

Los compuestos finales **3a-e** se obtuvieron siguiendo el esquema de síntesis propuesto (fig. 2). Para la preparación de diferentes derivados con el núcleo 4H-1,4-benzotiazin-1,1-dióxidos, en la literatura se encuentra una variedad de metodologías de síntesis (Filacchioni, 1976; López, 2005, Shou, 2005). Esencialmente, para la síntesis de los derivados de α -bromoacetofenonas **4a-e**, se intentó en un principio con el procedimiento más empleado industrialmente, que consiste en una reacción de sustitución electrofílica α al grupo carbonilo utilizando bromo molecular y cloruro de aluminio como catalizador en solventes como éter, tetracloruro o disulfuro de carbono (Cowper, 1943). Ahora bien, el rendimiento bajo estas condiciones es muy bajo ya que se producen reacciones colaterales, principalmente sustitución electrofílica en el anillo aromático dando α -bromoacetofenonas con el sustituyente bromo en la posición *meta* en mayor proporción (Pearson, 1973). Por otra parte, se ha reportado un método más limpio y específico para la bromación de compuestos carbonílicos en la posición α minimizando reacciones colaterales utilizando bromuro de piridino perbromuro (PSPBP) en un soporte de polímeros en tolueno (Habermann, 1999). Restrindiendo esta metodología, es decir, sin utilizar el soporte de polímeros del procedimiento original, se hizo reaccionar la acetofenona respectiva disuelta en ácido acético con el complejo bromo piridinio, obteniéndose eficientemente los derivados **4a-e** en buenos rendimientos tan limpios que no fue necesario posterior recristalización. Los puntos fusión de las bromoacetofenonas obtenidas fueron comparados con los reportados (Chemada, 2001; ChemIDPlus, 2006; Chemexp, 2006). Para la preparación de derivados que contienen el núcleo 3-aril-4H-1,4-benzotiazinas de **5** existe en la literatura una gran variedad de estrategias de síntesis (Cechetti, 1987; Steiner, 1993; Vysokov, 1993; Grandolini, 1999; Giannopoulos, 2000). Además, el intermediario **5a** se encuentra descrito en la literatura como previamente preparado por una estrategia diferente en tres etapas a partir del nitrotiofenol y bromoacetofenona (Babudri, 1984). Ahora bien, siguiendo el esquema de síntesis propuesto, los derivados **5a-e** fueron preparados adaptando un método reportado para la síntesis de 1,5-benzotiazepinas (Stephen, 1959; Trapani, 1995; John Bull, 2000) a partir de aminotiofenol mediante una reacción SN_2 donde el grupo -HS del aminotiofenol sustituye al bromo de **4a-e** y subsiguiente ciclación por ataque

intramolecular del grupo NH_2 al grupo carbonilo de las bromoacetofenonas respectivas, dando los derivados 3-aryl-4*H*-1,4-benzotiazinas **5a-e** exclusivamente y no una mezcla de isómeros. Finalmente, de acuerdo con el procedimiento general reportado (Kabayad, 2003) para oxidación del átomo de azufre de los compuestos **5a-e** utilizando peróxido de hidrógeno en ácido acético, fueron generados los compuestos deseados **3a-e**.

Figura 2
Esquema de la síntesis de los derivados 3-aryl-4*H*-1,4-benzotiazina-1,1-dióxido 3a-e



PARTE BIOLÓGICA

En la tabla 1 se presenta el porcentaje de inhibición de los compuestos sintetizados **3a-e**. Se observa que el compuesto **3d** fue el más activo (IC_{50} 1.8 μM) al compararlo con los resultados previamente reportados para compuestos análogos, donde los compuestos más activos mostraron un IC_{50} de 4-6 μM (Domínguez, 1997). Es de particular interés resaltar que el compuesto **3d** presenta el sustituyente cloro en las posiciones *meta* y *para* en uno de los anillos aromáticos y como resultó ser el más activo, este compuesto puede ser considerado como líder para el desarrollo de nuevas estructuras con una serie de sustituyentes que permitan establecer una relación estructura-actividad.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela (Proyecto IIF:09/1999). Al CDCH-UCV por el financiamiento recibido. A la Dra. Neira Gamboa por su asesoría en el desarrollo del manuscrito.

Referencias bibliográficas

- BABUDRI, F.; FLORIO, S.; VITRANI, A. Y DI NUNO, L. 1984. Synthesis of 4*H*-1,4-benzothiazines via lithiation alpha to sulfur of 2-acylamino phenyl alkyl sulfides, sulfoxides, and sulfones. *J. Chem. Soc. Perkin Transactions 1*. 8: 1899-903.
- BANERJEE, R.; LIU, J.; BEATTY, W.; PELOSOF, L.; KLEMB, M. Y GOKDBERG, DE. 2002. Four plasmepsin are active in the *Plasmodium falciparum* Food vacuole, including a protease with an active-site histidine. *Proc Natl Acad Sci, U.S.A.* 99: 990-995.
- BATRA, S.; SABNIS, YA; ROSENTHAL, PJ Y AVERY MITCHELL, A. 2003. Structure-based approach to falcipain-2 inhibitors: synthesis and biological evaluation of 1,6,7-trisubstituted dihydroisoquinolines and isoquinolines. *Bioorganic Med. Chem.* 11: 2293-1299.
- CECHETTI, V.; FRAVOLINI, A. Y FRIGUELLI, G. 1992. 1,4-Benzothiazine-2-carboxylic acid 1-oxides as analogues of antibacterial quinolones. *J. Heterocycl. Chem.* 29:375-382.
- CHEMADA FINE CHEMICALS. 2001. Full List of Products by Chemical Group. <http://www.chemada.com/cat1/default.asp>.
- CHEMEXPER. 2006. <http://www.chemexper.com/index>.
- ChemIDplus AdvancedFull Record, 2006. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus>.
- Cowper, RM Y DAVIDSON, LH. 1943. Phenacyl bromide. *Org. Syn. Coll. Vol. 2*, 480.
- COX-SINGH, J.; SINGH, B.; ALIAS, A. Y ABDULLAH, MS. 1995. Assessment of the association between three pfmdr1 point mutations and chloroquine resistance in vitro of malarial *P. falciparum* isolates. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 8: 436-437.
- DOMÍNGUEZ, JN; LÓPEZ, S.; CHARRIS, J.; LÚCIDO, I.; LOBO, GM; SEMENOV, A.; OLSON, E. Y ROSENTHAL, PJ. 1997. Synthesis and antimalarial effects of Phenothiazine Inhibitor of a *Plasmodium falciparum* Cysteine Protease. *J Med Chem.* 40: 2726-2732.
- EGGKSON, KK; DUFFIN, KL Y GOLDBERG, DE. 1999. Identification and characterization of falcilysin, a metallopeptidase involved in hemoglobin catabolism within the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J Biol Chem.* 274: 32411-32417.
- EKSI, S.; CZESNY, B.; GREENBAUM, DC; BOGYO, M. Y WILLIAMSON, KC. 2004. Targeted disruption of *Plasmodium falciparum* cysteine protease, falcipain 1, reduces oocyst production, not erythrocytic stage growth. *Molecular Microbiology* 53: 243-250.
- FILANCCIONI, G.; NACCI, V. Y STEFANCHI, G. 1976. Research on substances with psychotropic activity. IV Synthesis of 2,3-diphenyl-4-methyl-4*H*-1,4-benzothiazin-1,1-dioxide by thermal cyclization of N-(2-desylsulfonylphenyl)-glycine. *Fármaco (Sci)* 31: 478-88.
- GIANNOPOULOS, T.; FERGUSON, JR; WAKERFIELD, BJ Y VARVOUNIS, G. 2000. Tele Nucleophilic Aromatic Substitutions in 1-Nitro-3- and 1,3-Dinitro-5-trichloromethylbenzene, and 3-Trichloromethylbenzotrile. A New Synthesis of the 1,4-Benzothiazine-3(4*H*)-one Ring System from 3-Nitrobenzoic Acid. *Tetrahedron* 56: 447-453.

- GONZÁLEZ, D. 2005. Nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de la malaria. *Enf Emerg.* 7: 40-43.
- GRANDOLINI, G.; AMBROGI, V.; ROSSI, C.; TIRALTI, M. Y TUTTOBELLO, L. 1986. Synthesis, antibacterial and antifungal activities of some new derivatives of benzothiazole, 1,4-benzothiazine. *Eur J Med Chem* 21: 455-460.
- HABERMANN, J. 1999. Clean Synthesis of α -Ketones and their utilization in the Synthesis of 2-alkoxy-2,3-dihydro-2-aryl-1,4-benzodioxanes, 2-amino-4-aryl-1,3-thiazoles and piperidina-2-amino-1,3-thiazoles using polimer-supported reagent. *J Chem Soc, Perkin Trans. 1*: 2425-2427.
- KABAYADI, SR; KESAVAN, V.; CROUSSE, B.; BONNET-DELPON, D. Y BÉGUÉ, J-P. 2003. Mild and selective oxidation of sulfur compounds in trifluoroethanol: Diphenyl disulfide and methyl phenyl sulfoxide. *Organic Syntheses* 80: 184-189.
- KLEMB, M. Y GUKDBERG, DE. 2002. Biological roles of proteases in parasitic protozoa. *Ann. Rev Biochem.* 275: 275-305.
- KRÖHNKE, F. 1963. Syntheses Using Pyridinium Salts. *Angew. Chem. internat. Edit.* 2: 225.
- LEE, B.; SINGH, A.; CHIANG, P.; KEMP, S.; GOLDMAN, E.; WEINHOUSE, M.; VLASUK, G. Y ROSENTHAL, PJ. 2003. Antimalarial Activities of Novel Synthetic Cysteine Protease Inhibitors. *AAC.* 47:3810-3814.
- LIU, J.; GLUZMAN, IY; DREW, ME Y GOLDBERG, DE. 2005. The role of Plasmepsins. *J Biol Chem.* 280: 1342-1437.
- LÓPEZ, SE. 2005. Microwave induced Cyclization of α -Phenylsulfonyl-enaminoacrylates for the preparation of 4-aryl-4H-1,4-benzothiazine-1,1-dioxide derivatives. *J Heterocycl Chem.* 42: 1007-1010.
- MACCHIARULO, A.; COSTANTINO, G. Y FRINGUELLI, D. 2002. 1,4-Benzothiazine and 1,4-benzoxazine imidazole derivatives with antifungal activity: a docking. *Bioorg Med Chem* 10: 3415-23.
- MÉNDEZ, F. Y MOTANO, M. 2005. Defectos eritrocíticos y densidad de la parasitemia en pacientes con malaria por *Plasmodium falciparum*. *Panamericana de la Salud.* 18: 2532.
- PEARSON, WE y cols. 1973. The Swamping Catalyst Effect. V. The Halogenation of Aromatic Acid Derivatives. *J Org Chem* 28: 3147-3149.
- PALMER, JT; RASNICK, D.; KLAUS, JL Y BRÖMME, D. 1995. Vinyl Sulfones as Mechanism-Based Cysteine Protease Inhibitors. *J Med Chem.* 38: 3193-3196.
- Pan American Journal of Public Health, 2005. *Revista Panamericana de Salud Pública* vol. 18, No. 3. <http://www.ingentaselect.com>
- ROSENTHAL, PJ; MCKERROW, JH; AIKAWA, M.; NAGASAWA, H. Y LEECHY, JH. 1988. A malarial cysteine proteinase is necessary for hemoglobin degradation by *Plasmodium falciparum*. *J Clin Invest* 82: 1560-1566.
- ROSENTHAL, PJ; OLSON, JE; LEE, GK; PALMER, JT; KLAUS, JL Y RASNICK, D. 1996. Antimalarial Effects of Vinyl Sulfone Cysteine Proteinase Inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 40: 1600-1603.
- ROSENTHAL, PJ. 1998. Proteases of Malaria Parasites: New Targets for Chemotherapy. *Emerging Infections Diseases,* 4, 49-57.
- ROSENTHAL, PJ; SILAYI, PS; SLIGH, A. Y SHENAI, BR. 2002. Cysteine proteases of malaria parasites targets for chemotherapy. *Curr Pharm Des.* 8: 1659-1672.
- ROSENTHAL, PJ. 2004. Cysteine proteases and malaria parasites. *Int. J. Parasitol.* 34: 1489-1499.
- SCHOU, SC. 2005. Synthesis and pharmacological evaluation of 4H-1,4-benzothiazine-2-carbonitrile-1,1-dioxide and N-(2-cyanomethylsulphonylphenyl)acylamide derivatives as potential activators of ATP sensitive Potassium Channels. *Bioorg Med Chem.* 13: 141-155.
- SHENAI, BR; SIJWALI, PS; SINGH, A. Y ROSENTHAL, PJ. 2001. Characterization of native and recombinant falcipain-2, a principal trophozoite cysteine protease and essential hemoglobinase of *Plasmodium falciparum*. *J Biol Chem.* 275: 29000-29010.
- SIJWALI, PS; SHENAI, BR; GUT, J.; SINGH, A. Y ROSENTHAL, PJ. 2001. Expression and characterization of the *Plasmodium falciparum* hemoglobinase falcipain-3. *Biochem J* 360: 481-489.
- TRAPANI, G.; LATROFA, A.; FRANCO, M. Y LISO, G. 1995. Synthesis of 2-substituted-N-carboximethyl-1,5-benzothiazepinones and 1,4-benzothiazin-3-ones and their evaluation as angiotensin converting enzyme inhibitors. *II FARMACO,* 50: 107-112.
- VYSOKOV, I.; VHARUSHIN, V.; AFANASYEVA, G. Y CHUPAKIN, O. 1993. *Mendeleev Commun.* 159-160.
- WEINEIR, A. Y SCHATZ, P. 1974. pubs.acs.org/cgi-bin/abstract.cgi/inocaj/1975/14/i07/f.pdf. <http://pubs.acs.org/>
- WELLEMS, TE. 2002. *Plasmodium* chloroquine resistance and the search for a replacement antimalarial drugs. *Science* 298: 124-126.

Recibido: septiembre 2006
 Aceptado: noviembre 2006