

Síntesis de 4-cloro-3-(2-cloroetil)2-metilquinolinas. Evaluación de su potencial actividad antimalárica *in vitro*

Synthesis of 4-chloro-3-(2-chloroethyl)2-methylquinolines. Evaluation of their potential antimalaric activity *in vitro*

GRICELA LOBO¹, JOSÉ CAMACHO¹, NEIRA GAMBOA², JUAN RODRIGUES², YVES BLACHE³,
REINALDO ATENCIO⁴, TERESA GONZÁLEZ⁴ y JAIME CHARRIS*¹

Resumen

Se sintetizó una serie de 4-cloroquinolinas y se evaluaron *in vitro* como inhibidores de la formación de la β -hematina. Sólo el derivado 6g resultó ser efectivo a una concentración de 10 μ M; la prueba como inhibidores de la degradación de la hemoglobina resultó ser débil. A través del estudio por cristalografía de rayos-X se pudo establecer la configuración geométrica (E) de los derivados del tipo 5.

Palabras clave: Síntesis, 4-cloroquinolina, antimalárica, b-hematina.

Abstract

A serie of 4-chloroquinolines was synthesized and evaluated as inhibitors of β -hematin formation *in vitro*. Only one derivative 6g was effective at a concentration of 10 μ M; the proof as inhibitors of hemoglobin degradation for all compounds was marginal. By X-ray crystallography we established the geometric configuration (E) of type 5 derivatives.

Key Words: Synthesis, 4-chloroquinolines, antimalaric, β -hematin.

Introducción

La malaria es la enfermedad parasitaria más importante desde el punto de vista del número de individuos enfermos y su impacto socioeconómico. Es considerada un problema de salud pública en más de noventa países, habitados por un total de 2.400 millones de personas; más de un 40% de la población mundial. La prevalencia de la enfermedad se estima en unos 300-500 millones de casos clínicos anuales, más de 90% de los casos de malaria se encuentran en África sub-sahariana y la mortalidad es de aproximadamente 1-2 millones de muertes al año (WHO 2005).

Existen cuatro especies de *Plasmodium* que producen la malaria en humanos, a saber: *ovale*, *vivax*,

falciparum y *malariae*; pero sin duda la infección causada por *Plasmodium falciparum* es la más peligrosa. Los parásitos se transmiten por mosquitos del género *Anopheles* y tras la picadura se establece una infección asintomática en las células hepáticas. Después de un período de incubación de aproximadamente una semana, se liberan las formas sanguíneas del parásito que se desarrollan y multiplican en el interior de los eritrocitos, generándose las diferentes manifestaciones de la enfermedad, características de cada especie. En la malaria cerebral, una complicación severa causada por el *P. falciparum*, el secuestro de los eritrocitos infectados en los vasos sanguíneos, se asocia con pérdida del conocimiento y la afección resulta letal si no es tratada. Los parásitos de las especies *P. vivax* y *P. ovale*, se caracterizan

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica; ²Unidad de Bioquímica. Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Aptdo. 47206, Los Chaguaramos, 1041-A, Caracas, Venezuela. jaime.charris@ucv.ve. ³Laboratoire MFS EA 3838 - groupe «biofouling et produits naturels marins» UFR Sciences et Techniques Université du Sud Toulon-Var, Francia. ⁴Laboratorio de Síntesis y Caracterización de Nuevos Materiales, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela.

por presentar la fase de hipnozoíto, que puede persistir durante años en el hígado y causar recidivas (WHO 2005).

El tratamiento ha sido posible durante muchos años gracias a la existencia de un número restringido de fármacos, presentando cada uno de ellos una serie de limitaciones de tipo farmacológico, aunque el problema más apremiante de carácter reciente es la aparición de resistencia; a ello se debe –en parte– la progresión actual de la enfermedad (Wellems, 2002). Los fármacos de mayor utilización, como son la cloroquina (4-aminoquinolina), la quinina y la mefloquina (aril amino alcoholes), la asociación de sulfadoxina-pirimetamina, presentan beneficios limitados y en determinados casos son de una eficacia cuestionable, debido a los fenómenos de resistencia (Fidock y col., 2000, White, 1992). La artemisinina y sus derivados (endoperóxidos) constituyen una clase de fármacos que se vienen utilizando desde hace mucho tiempo para el tratamiento de la enfermedad. Recientemente, se ha venido sintetizando una serie de derivados de elevada eficacia, que constituyen alternativas prometedoras en cuanto a su posible utilización en clínica a corto plazo (Borsnik y col., 2002). Entre otro grupo de compuestos de utilización habitual, cabe destacar determinados antibióticos desarrollados como antibacterianos, que también exhiben acción antibacteriana y tienen aplicaciones profilácticas (Foth y col., 2003).

No obstante, recientemente se han producido una serie de avances que abren nuevas expectativas en el desarrollo de antimaláricos. El advenimiento del Proyecto Genoma (Gardner, 2002), junto al conocimiento cada vez mayor del mecanismo de acción de ciertos fármacos y de las bases moleculares de la resistencia, constituyen el punto de partida para identificar nuevos compuestos. En relación con las estrategias utilizadas en la identificación de nuevos compuestos aplicables al control de la malaria, existen dos tendencias actuales. Por una parte se están utilizando combinaciones nuevas de fármacos ya conocidos o derivados de clases de compuestos de eficacia reconocida, con el fin de generar análogos que sean activos, incluso frente a cepas resistentes; en segundo lugar se ha identificado una serie de blancos terapéuticos potenciales, esenciales para la viabilidad que resulta del conocimiento del parásito y que desde la perspectiva racional se estudian para desarrollar inhibidores específicos, a partir de la información funcional y estructural. Ambas estrategias están generando un conjunto de moléculas prometedoras, que unidas a la existencia de iniciativas a escala mundial para financiar estudios en el área, abren la posibilidad de que en un futuro próximo se

disponga de agentes quimioterapéuticos nuevos para controlar la enfermedad.

Como parte de nuestro programa relacionado con el diseño, síntesis y evaluación biológica de aza-análogos de alcaloides con actividad biológica, se presentan en este trabajo los resultados concernientes a la preparación y evaluación biológica preliminar como antimaláricos *in vitro* de una serie de quinolinas 1, diaza-análogos fenantrenos 2 (figura 1), de reconocida actividad antimalárica *in vitro* (Blache y col., 2000).

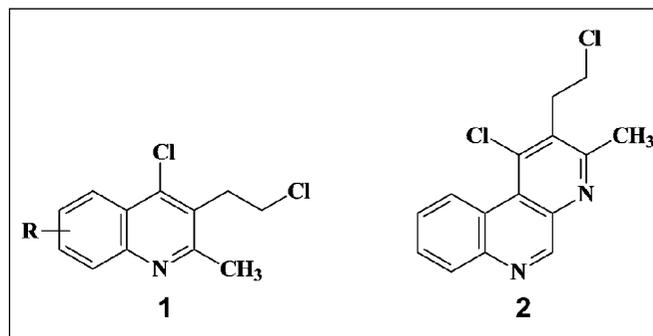


Figura 1. Quinolinas 1, diaza-análogos fenantrenos 2.

Materiales y métodos

QUÍMICO

Los puntos de fusión fueron tomados en un aparato Fischer Johns y no están corregidos. Los espectros de infrarrojo fueron determinados como discos de KBr, utilizando un espectrofotómetro Shimadzu modelo 470. Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron determinados en un equipo marca JEOL Eclipse 270 MHz, usando como solvente CDCl_3 y reportados en ppm, empleando como estándar interno CHCl_3 residual. Las pruebas de análisis elemental fueron realizadas por el Servicio Central de la Universidad de Málaga, Málaga, España, cuyos resultados están en el rango del $\pm 0.4\%$ de los valores calculados. La cromatografía analítica de capa fina se realizó sobre placas de silica gel-60F₂₅₄ y fue visualizada por UV. Los datos de rayos X fueron colectados en un difractómetro Rigaku provisto con un detector CCD.

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE DERIVADOS (E) 3-(1-(FENILAMINA SUSTITUIDO) ETILIDEN)4,5 DIHIDROFURAN-2-ONA 3A-I

Una mezcla de 2-acetilbutirolactona (0.5 g, 4 mmol) y la anilina respectiva (4 mmol) en tolueno recién destilado (20 mL), ácido *p*-toluensulfónico en cantidad catalítica se dejó en reflujo por 12 h bajo atmósfera de nitrógeno y equipado con una trampa

Dean Stark. Finalizada la reacción, el solvente se eliminó a presión reducida, se agregó agua (10 mL) y se neutralizó con una solución de carbonato de sodio al 10%; la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución saturada de cloruro de sodio y se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y evaporó a presión reducida. El aceite resultante se trató con n-hexano caliente y al dejar enfriar se formó un sólido, éste se recrystalizó en etanol caliente.

(E) 3-(1-(FENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5A.

Rto. 82%; P.f. 74-75 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3260, 1687; ^1H RMN : 2.03 (s, 3H, CH_3), 2.89 (t, 2H, H_4 , J: 7.8 Hz), 4.35 (t, 2H, H_5 , J: 7.8 Hz), 6.51 (dd, 1H, H_2 , J: 7.4, 1.9 Hz), 6.52 (t, 1H, H_4 , J: 7.7 Hz), 6.71 (m, 2H, $\text{H}_{4,3}$), 6.91 (dd, 1H, H_6 , J: 7.6 Hz), 9.97 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(m-METILFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5B.

Rto. 85%; P.f. 70-72 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3200, 1692; ^1H RMN : 2.00 (s, 3H, CH_3), 2.31 (s, 3H, CH_3), 2.88 (t, 2H, H_4 , J: 8.1 Hz), 4.33 (t, 2H, H_5 , J: 8.1 Hz), 6.84 (m, 2H, Ar), 6.94 (d, 1H, H_3 , J: 7.4 Hz), 7.19 (d, 1H, H_5 , J: 7.4 Hz), 9.92 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(p-METILFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5C.

Rto. 88%; P.f. 80 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3200, 1676; ^1H RMN : 1.93 (s, 3H, CH_3), 2.32 (s, 3H, CH_3), 2.88 (t, 2H, H_4 , J: 7.9 Hz), 4.32 (t, 2H, H_5 , J: 7.9 Hz), 6.93 (d, 2H, $\text{H}_{3,5}$, J: 8.2 Hz), 7.10 (d, 2H, $\text{H}_{2,6}$, J: 8.2 Hz), 9.87 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(o-METOXIFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5D.

Rto. 85%; P.f. 118-120 °C (d); IR (KBr) cm^{-1} : 3264, 1680; ^1H RMN : 1.99 (s, 3H, CH_3), 2.89 (t, 2H, H_4 , J: 7.7 Hz), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 4.33 (t, 2H, H_5 , J: 7.7 Hz), 6.72 (t, 1H, H_5 , J: 7.4 Hz), 6.89 (d, 1H, H_3 , J: 8.3 Hz), 7.04 (d, 1H, H_6 , J: 8.1 Hz), 7.11 (t, 1H, H_5 , J: 7.6 Hz), 9.87 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(m-METOXIFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5E.

Rto. 91%; P.f. 72-74 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3273, 1687; ^1H RMN : 2.00 (s, 3H, CH_3), 2.88 (t, 2H, H_4 , J: 7.9 Hz), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.32 (t, 2H, H_5 , J: 8.0 Hz), 6.78 (m, 2H, Ar), 6.94 (d, 1H, H_3 , J: 7.2 Hz), 7.21 (d, 1H, H_5 , J: 7.2 Hz), 9.90 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(p-METOXIFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5F.

Rto. 80%; P.f. 80-82 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3264, 1675; ^1H RMN : 1.89 (s, 3H, CH_3), 2.88 (t, 2H, H_4 , J: 7.7 Hz), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.33 (t, 2H, H_5 , J: 7.7 Hz), 6.83 (d, 2H, $\text{H}_{3,5}$, J: 8.1 Hz), 6.98 (d, 2H, $\text{H}_{2,6}$, J: 8.1 Hz), 9.76 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(m-CLOROFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5G.

Rto. 76%; P.f. 60-62 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3273, 1691; ^1H RMN : 2.03 (s, 3H, CH_3), 2.88 (t, 2H, H_4 , J: 7.5 Hz), 4.32 (t, 2H, H_5 , J: 7.5 Hz), 6.59 (m, 2H, Ar), 7.03 (m, 1H, H_3), 7.28 (d, 1H, H_5 , J: 7.2 Hz), 9.89 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(m-FLUORFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5H.

Rto. 79%; P.f. 62-63 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3267, 1672; ^1H RMN : 2.00 (s, 3H, CH_3), 2.88 (t, 2H, H_4 , J: 7.9 Hz), 4.34 (t, 2H, H_5 , J: 7.9 Hz), 6.78 (m, 2H, Ar), 6.94 (m, 1H, H_3), 7.21 (d, 1H, H_5 , J: 6.9 Hz), 9.87 (sa, 1H, NH).

(E) 3-(1-(m-TRIFLUORMETILFENILAMINO)ETILIDEN)
4,5-DIHIIDROFURAN-2-ONA 5I.

Rto. 95%; P.f. 186 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 3264, 1689; ^1H RMN d: 2.05 (s, 3H, CH_3), 2.91 (t, 2H, H_4 , J: 8.1 Hz), 4.36 (t, 2H, H_5 , J: 8.1 Hz), 7.20-7.28 (m, 2H, Ar), 7.36-7.44 (m, 2H, Ar), 10.07 (sa, 1H, NH).

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS
DE DERIVADOS DE 4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)-
-2-METILQUINOLINA 6A-I

Cada uno de los compuestos 5a-i (1 mmol) en oxiclورو de fósforo (POCl_3 , 20 mL), se dejó en reflujo por 24h. El exceso de oxiclورو de fósforo fue removido a presión reducida, se añadió agua y la mezcla fue neutralizada con una solución saturada de carbonato de sodio. Se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio. Se eliminó el solvente a presión reducida y el aceite obtenido en cada caso fue purificado mediante una columna de alúmina neutra, utilizando diclorometano como eluyente para dar sólidos de colores característicos para cada quinolina sintetizada.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)-2-METILQUINOLINA 6A.

Polvo beige, Rto. 93%; P.f. 56-58 °C; IR (KBr) cm^{-1} : 2960, 1552; ^1H RMN : 2.81 (s, 3H, CH_3), 3.47 (t, 2H, CH_2 , J: 7.1 Hz), 3.74 (t, 2H, CH_2 , J: 7.1 Hz), 7.56 (t, 1H, H_6 , J: 7.9 Hz), 7.69 (t, 1H, H_7 , J: 7.8 Hz), 7.98 (d,

1H, H₅, J: 8.0 Hz), 8.15(d, 1H, H₈, J:8.0 Hz). C₁₂H₁₁NCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 60.01%, H 4.63%, N 5.83%; Anal. Elemen. Deter. C 59.78%, H 4.63%, N 5.93%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)-2,6-DIMETILQUINOLINA 6B.

Sólido marrón, Rto. 94%; P.f. 80-82 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2940, 1574; ¹H RMN : 2.56 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.47 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 3.76 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 7.22 (d, 1H, H₈, J: 8.2Hz), 7.56 (dd, 1H, H₇, J: 8.2, 1.9 Hz), 7.94 (s, 1H, H₅). C₁₃H₁₃NCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 61.43%, H 5.17%, N 5.51%; Anal. Elemen. Deter. C 61.26%, H 5.23%, N 5.74%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)-2,7-DIMETILQUINOLINA 6C.

Sólido beige, Rto. 90%; P.f. 50-52 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2960, 2352, 1580, 1552, 739; ¹H RMN : 2.56 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.45 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 3.73 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 7.86 (d, 1H, H₈, J: 1.6 Hz), 8.24 (d, 1H, H₅, J: 8.5 Hz), 8.69 (dd, 1H, H₆, J: 8.5, 1.9 Hz). C₁₃H₁₃NCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 61.43%, H 5.17%, N 5.51%; Anal. Elemen. Deter. C 61.70%, H 4.96%, N 5.49%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)

-2-METIL-6-METOXIQUINOLINA 6D.

Sólido marrón, Rto: 87%; P.f. 112-114 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2944, 1568; ¹H RMN : 2.79 (s, 3H, CH₃), 3.47 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 3.75 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 7.35 (dd, 1H, H₇, J: 8.7, 2.4 Hz), 7.39 (d, 1H, H₅, J: 2.4), 7.93 (d, 1H, H₈, J: 8.7 Hz). C₁₃H₁₃NOCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 57.79%, H 4.86%, N 5.19%; Anal. Elemen. Deter. C 58.03%, H 4.91%, N 5.07%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)

-2-METIL-7-METOXIQUINOLINA 6E.

Sólido marrón, Rto: 93%; P.f. 68-70 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2944, 1573; ¹H RMN : 2.77 (s, 3H, CH₃), 3.44 (t, 2H, CH₂, J: 7.3 Hz), 3.72 (t, 2H, CH₂, J: 7.3 Hz), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 7.24 (dd, 1H, H₆, J: 8.7, 2.4Hz), 7.56 (d, 1H, H₈, 2.4Hz), 8.02 (d, 1H, H₅, J: 8.7 Hz). C₁₃H₁₃NOCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 57.79%, H 4.86%, N 5.19%; Anal. Elemen. Deter. C 57.76%, H 4.91%, N 5.23%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)

-2-METIL-8-METOXIQUINOLINA 6F.

Cristales violeta, Rto: 87%; P.f. 150 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2944, 1568; ¹H RMN : 2.86 (s, 3H, CH₃), 3.46 (t, 2H,

CH₂, J: 7.4 Hz), 3.73 (t, 2H, CH₂, J: 7.4 Hz), 4.06 (s, 3H, OCH₃), 7.05 (d, 1H, H₅, J: 7.1 Hz), 7.47 (t, 1H, H₆, J: 7.5), 7.73 (dd, 1H, H₇, J: 7.7, 1.9 Hz). C₁₃H₁₃NOCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 57.79%, H 4.86%, N 5.19%; Anal. Elemen. Deter. C 58.02%, H 4.86%, N 5.33%.

4,7-DICLORO-3-(2-CLOROETIL)

-2-METILQUINOLINA 6G.

Sólido marrón, Rto: 79%; P.f. 40-41 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2940, 1578; ¹H RMN : 2.79 (s, 3H, CH₃), 3.48 (t, 2H, CH₂, J: 7.6 Hz), 3.74 (t, 2H, CH₂, J: 7.6 Hz), 7.91 (dd, 1H, H₆, J: 8.4, 2.0Hz), 7.97 (d, 1H, H₈, 2.0Hz), 8.08 (d, 1H, H₅, J: 8.4 Hz). C₁₂H₁₀NCl₃. Anal. Elemen. Calcu. C 52.51%, H 3.68%, N 5.10%; Anal. Elemen. Deter. C 52.63%, H 3.66%, N 4.93%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)

-2-METIL-7-FLUOROQUINOLINA 6H.

Sólido marrón, Rto: 86%; P.f. 90-92 °C; IR (KBr) cm⁻¹: 2937, 1562; ¹H RMN : 2.69 (s, 3H, CH₃), 3.45 (t, 2H, CH₂, J: 7.2 Hz), 3.79 (t, 2H, CH₂, J: 7.2 Hz), 7.91 (m, 1H, H₆), 7.97 (m, 1H, H₈), 8.08 (d, 1H, H₅, J: 8.7 Hz). C₁₂H₁₀NFCl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 55.83%, H 3.91%, N 5.43%; Anal. Elemen. Deter. C 56.01%, H 3.93%, N 5.57%.

4-CLORO-3-(2-CLOROETIL)

-2-METIL-7-TRIFLUORMETILQUINOLINA 6I.

Sólido púrpura, Rto. 83%; P.f. 58-60 °C; IR (KBr), cm⁻¹: 2950, 1630; ¹H RMN : 2.83 (s, 3H, CH₃), 3.50 (t, 2H, CH₂, J: 7.7 Hz), 3.78 (t, 2H, CH₂, J: 7.7 Hz), 7.73 (dd, 1H, H₆, J: 1.6 Hz), 8.28 (m, 2H, H_{5,8}). C₁₃H₁₀NF₃Cl₂. Anal. Elemen. Calcu. C 50.67%, H 3.28%, N 4.55%; Anal. Elemen. Deter. C 50.71%, H 3.45%, N 4.76%.

ANÁLISIS POR RAYOS-X

Los datos cristalográficos se reportan en la Tabla I. El cristal fue obtenido a través de una evaporación lenta en etanol; el mismo, con tamaño 0.27x 0.26x0.20 mm, fue utilizado para el estudio de difracción por rayos-X. Los datos fueron recolectados en un difractor Rigaku provisto con un detector CCD (Crystal Clear, Rigaku/MS, Inc., 2000). Los datos fueron reducidos y procesados usando el programa Crystal Structure 3.6.0 (Rigaku/MS, Inc., 2004). La estructura fue resuelta usando métodos directos SHELXTL-NT V5.1 (Bruker AXS, 1998). Todos los átomos diferentes al hidrógeno fueron refinados anisotrópicamente. Los átomos de hidrógeno

Tabla I
 Datos cristalográficos para 5b.

Fórmula molecular	C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₄
Forma /color	Bloque amarillo
Peso molecular	434.52
Temperatura (°K)	293
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P21/n
Dimensiones de la celda unidad	$a = 12.741(3)$, $a = 90.000^\circ$ $b = 7.6659(17)$, $b = 103.070(5)^\circ$ $c = 24.295(6)$, $g = 90.000^\circ$
Volumen (Å ³), Z	2311.4(10), 4
Densidad (g.cm ⁻³)	1.249
Coefficiente de absorción, mm ⁻¹	0.084
F(000)	928
Dimensiones del cristal (mm)	0.27x0.26x0.2
N de reflexiones colectadas	26061
Reflexiones independientes	4800
Bondad del ajuste en F2	1.196
R1, wR1 Indices R final ($I > 2\sigma(I)$)	0.1254, 0.3764
R2, wR2 (all data)	0.2064, 0.3312
Máx. y min. densidad residual (e. Å ³)	0.341/-0.333

fueron incluidos en sus posiciones calculadas, excepto para el átomo de hidrógeno del grupo NH, el cual fue considerado en la posición encontrada. Todos esos átomos fueron refinados usando el método SHELXTL-NT V5.1 (Bruker AXS, 1998). Los datos cristalográficos reportados en este trabajo están depositados en la base de datos Cambridge Crystallographic Data Centre bajo el número CCDC 686939. Copia de este material podrá ser obtenida libre de cargo al aplicar a la dirección CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK (fax: (44) 01223 336033); e-mail: deposit@ccdc.ac.uk

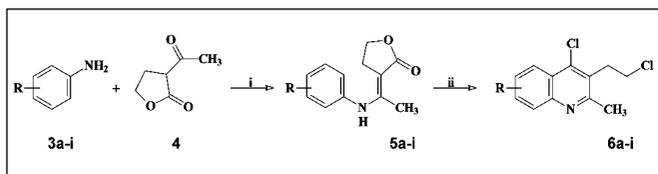
BIOLÓGICO

El ensayo de inhibición de la formación de β -hematina se realizó de acuerdo con el método descrito por Baelmans y col., 2000. Brevemente, una solución de clorhidrato de hemina (50 μ L), disuelta en DMSO (5,2 mg/mL), se distribuyó en microplacas de 96 pozos. Diferentes concentraciones de los compuestos disueltos en DMSO (100 μ M-1mM) se añadieron por triplicado en la microplaca (50 μ L), con una concentración final por pozo de 2,5 mM-125 μ M. Los controles de solvente contenían H₂O (50 μ L) o DMSO (50 μ L) y el control positivo cloroquina (2,5 mM-125 μ M/pozo, 50 μ L). La formación de β -hematina se inició con la adición de buffer acetato (100 μ L 0,2M, pH 4,4). Las microplacas se incubaron para

permitir la reacción (37 °C x 48 h). Luego de centrifugar (4000 rpm x 15 min, IEC-CENTRA, MP4R), se descartó el sobrenadante (hemina no cristalizada) y el sedimento (β -hematina formada) se lavó dos veces (DMSO 200 μ L) a fin de eliminar totalmente la hemina libre. Finalmente, se disolvió en NaOH (200 μ L, 0,2 N) para hidrolizar la β -hematina a hemina. Los agregados disueltos se diluyeron 1:2 con NaOH (0,1 N) y se les determinó la absorbancia a 405 nm (Microplate Reader, BIORAD-550). Los resultados se expresaron como % de inhibición de formación de β -hematina (%IFbH) 95.71 \pm 0.39% para el compuesto 6g, comparado con la cloroquina 96.61 \pm 0.26% que se empleó como patrón de actividad conocida como inhibidor de la polimerización del hemo.

Resultados y discusión

La 2-acetilbutirolactona 4 es un reactivo útil para la síntesis de muchos N-heterociclos (Wamhoff, 1972). El uso de este reactivo para la síntesis de algunas quinolinas sustituidas, como las 4-cloro-3-(2-cloroetil)2-metilquinolinas, fue primero descrita por Ozawa y col., 1955; y por Badawey, 1997. Mediante esta reacción, en el presente trabajo se obtuvieron los compuestos propuestos en el esquema 1. Los intermediarios (*E*)-dihidro-2-(3H)-furanonas fueron obtenidos en excelente rendimiento a través de la condensación de las 2-acetilbutirolactona 4 con la



Esquema. Síntesis de 4-cloro-3-(2-cloroetil)2-metilquinolinas 6a-i.

i. Tolueno, APTS, reflujo, 12h. ii. POCl₃, reflujo, 24h.

anilina respectiva en tolueno, ácido toluenosulfónico como catalizador a reflujo, recogiendo el agua generada en una trampa Dean Stark. La configuración de los compuestos 5a-i fue determinada a través de resonancia magnética de protón RMN ¹H y confirmada por cristalografía de rayos-X (figura 2). Para estos compuestos se pudo observar en los espectros de infrarrojo un patrón característico en las señales, alrededor de 3200 y 1670 cm⁻¹ correspondiente a los grupos aminos y carbonilo de la lactona respectivamente. A través de los espectros de RMN de protón se pudo observar señales alrededor de 1.9, 2.4 y 4.3 ppm asignadas a los grupos metil y sistema alifático de cinco miembros respectivamente; además de las señales en la región aromática con patrones característicos para cada sistema. Tal como se muestra en la figura 2, el puente de hidrógeno intramolecular le confiere una configuración (*E*) a las estructuras. La unidad asimétrica de la estructura cristalina consiste de dos moléculas cristalográficamente independientes que se encuentran en posiciones generales. Estas moléculas exhiben enlaces de hidrógeno intramolecular del tipo N-H...O, donde cada molécula forma un anillo de seis miembros descrito como *S*(6) según la teoría de grafos (Bernstein y col., 1995). Estos anillos de seis miembros generados por la interacción intermolecular adoptan una conformación casi planar, donde la desviación máxima de los planos medios son: 0.107Å para C20 y 0.05Å para C7. Detalles de la geometría de los enlaces de hidrógeno se dan en la Tabla II. Los grupos metil-fenil (A/C) de las dos moléculas independien-

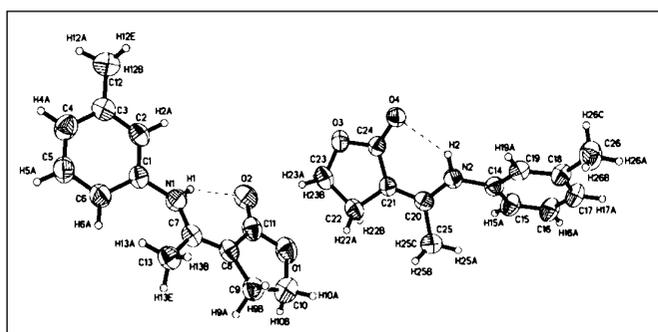


Figura 2. Diagrama ortep de la estructura molecular 5b, donde se muestran las interacciones intramoleculares N-H...O que se generan en las dos moléculas independientes. Los elipsoides se dibujaron con el 35% de probabilidad.

tes se encuentran rotados con respecto a los planos medios de los anillos de seis miembros generados por el enlace de hidrógeno. Los ángulos diédricos entre los planos medios entre los anillo de seis (A/C) y los anillos de cinco (B/D) son 27.1(2)° y 49.6(2)° respectivamente.

En la estructura cristalina (figura 3a y b) se observan capas paralelas al plano *ab* conformadas por dos tipos de columnas, donde la molécula 1 forma columnas moleculares relacionadas por un eje de tornillo 21 y la molécula 2 forma una columna de dímeros relacionados por un centro de inversión; estos dímeros están sostenidos principalmente por interacciones intermoleculares del tipo: N-H...O, C-H...p y p...p. Finalmente, estas capas se apilan a través de interacciones débiles del tipo C-H...p y p...p. Los valores de las distancias y ángulos de enlaces seleccionados se dan en la Tabla III. Estas distancias se relacionan con valores promedios reportados en la literatura para este tipo de compuestos (Speck, 2003).

Caracterizados estos intermediarios, fueron sometidos a ciclación regioselectiva, con subsiguiente clorinación en un sólo paso de reacción en las posiciones 4 del anillo quinolínic y la cadena lateral sobre la posición 3, al ser tratados con oxiclورو de fósforo a reflujo. A pesar de que los dos pasos envueltos en el proceso de obtención de estos compuestos pudiesen ser reducidos a sólo un paso de reacción, encontramos que es preferible aislar los intermediarios 5a-i antes de la ciclación, con la finalidad de incrementar el rendimiento final, tal como se describe en la parte experimental. Los compuestos finales fueron purificados a través de columna cromatográfica, usando como soporte alúmina neutra y como eluente diclorometano. Los detalles experimentales, los datos de IR, RMN ¹H, análisis elemental

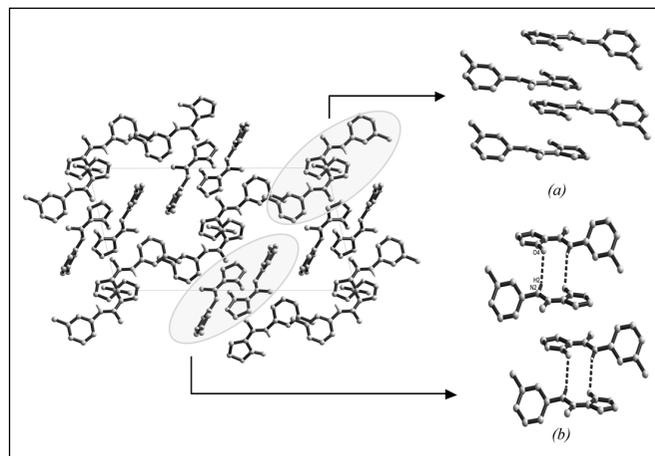


Figura 3. (a) Vista de las capas paralelas al plano *ab* conformadas por dos tipos de columnas, donde la molécula 5b forma columnas moleculares relacionadas por un eje de tornillo 21. (b) Molécula 5b, se observa la formación de una columna de dímeros relacionados por un centro de inversión.

Tabla II
Geometría de los enlaces de hidrógeno (Å, °) 5b.

D-H...A	D-H	H...A	D...A	D-H...A
N(1)-H(1) ...O(2)	0.9361	2.0092	2.733(6)	132.85
N(2)-H(2) ...O(4)	0.9474	2.2641	2.844(5)	118.80
N(2)-H(2) ...O(4) ⁱ	0.9474	2.4641	3.322(5)	150.51
C(23)-H(23B) ...O(2)	0.9303	2.5163	3.481(6)	173.07

i = 4-x, -1-y, 1-z

Tabla III
Distancias (Å) y ángulos de enlaces (°) seleccionados 5b.

C(1) - C(2)	1.377(6)	C(21) - C(22)	1.505(6)
N(1) - C(7)	1.347(6)	N(2) - C(20)	1.361(5)
C(7) - C(13)	1.498(6)	C(20) - C(25)	1.516(7)
C(11) - O(1)	1.364(6)	C(24) - O(3)	1.352(5)
C(11) - O(2)	1.215(6)	C(24) - O(4)	1.232(5)
C(11) - C(8)	1.450(7)	C(24) - C(21)	1.428(6)
C(10) - O(1)	1.438(7)	C(23) - O(3)	1.443(6)
C(7) - N(1) - H(1)	117.8(4)	C(20) - N(2) - H(2)	121.7(4)
N(1) - C(1) - C(6)	124.0(5)	N(2) - C(20) - C(21)	121.4(4)
N(1) - C(7) - C(13)	120.6(4)	N(2) - C(20) - C(25)	120.0(4)
N(1) - C(7) - C(8)	120.0(5)	N(2) - C(14) - C(19)	117.8(4)

de los compuestos sintetizados, son descritos en la parte experimental, donde podemos observar en los espectros de infrarrojo la desaparición de las señales correspondientes a los grupos amino y lactona presentes en los materiales de partida, con la aparición de señales alrededor de 1560 cm^{-1} , asignadas al estiramiento C=C del anillo de la quinolina. Por su parte, los espectros de resonancia magnética de protón muestran las señales características de los grupos metil y etilidén alrededor de 2.3, 3.4 y 3.7 ppm respectivamente, además del patrón característico, relacionado con el tipo de sustitución para el sistema del anillo quinolínico.

Todos los compuestos sintetizados fueron sometidos a evaluación *in vitro*, para medir su capacidad inhibitoria sobre la formación de β -hematina. En dicho ensayo se somete bajo condiciones ácidas a la hemina, para que se genere la β -hematina. Todos los compuestos sintetizados fueron sometidos a dicha prueba, sin embargo, sólo el compuesto 6g fue capaz de inhibir la formación de β -hematina hasta un $95.71 \pm 0.39\%$, comparado con la cloroquina $96.61 \pm 0.26\%$ que se empleó como patrón de actividad conocida como inhibidor de la polimerización del he-

mo, a una concentración final por pozo de entre 2,5 mM y 125 μM . Los compuestos fueron sometidos a evaluación como inhibidores de la degradación de la hemoglobina; sin embargo, el resultado mostrado por los mismos fue negativo a una concentración de 10 μM .

Conclusiones

En conclusión, hemos encontrado un método fácil y eficiente para la síntesis de 4-cloroquinolinas derivadas, que pueden ser de gran valor en química medicinal para el desarrollo de agentes quimioterapéuticos en los caso de afección con malaria. Se pudo deducir, a través de los estudios de rayos, que la configuración de los intermediarios del tipo 5 es (E) favorecida por la formación del puente de hidrógeno intramolecular. En las pruebas preliminares realizadas *in vitro* sobre la inhibición de la polimerización de la β -hematina; se pudo observar que sólo un derivado presentó actividad excelente, al ser comparado con la cloroquina, sin embargo, la evaluación como inhibidor de la degradación de la hemoglobina resultó poco efectiva para cada compuesto sintetiza-

do. Para finalizar, podemos indicar que el compuesto 6g se puede seleccionar como una importante estructura líder, que nos permitirá el desarrollo en el futuro de agentes efectivos para el tratamiento de la malaria.

Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, proyectos N° IIF-03.2006 y PG. CDCH 06-6502-2006 respectivamente, así como al programa PCP Venezuela-Francia, por los financiamientos otorgados para la ejecución de este proyecto.

Referencias bibliográficas

- Badawey E, Kappe T. 1997. Potential antineoplasics. Synthesis and cytotoxicity of certain 4-chloro-3-(2-chloroethyl)-2-methylquinolines and related derivatives. *Eur J Med Chem* 32:815-822.
- Baelmans R, Deharo E, Muñoz V, Sauvain M, Ginsburg H. 2000. Experimental conditions for testing the inhibitory activity of chloroquine on the formation of β -hematin. *Exp Parasitol* 96:243-24.
- Bernstein J, Davis RE, Simon L, Chang NL. 1995. Patterns in hydrogen bonding: Functionality and graph set analysis in crystals. *Angew Chem Int Ed Engl* 34: 1555-1573.
- Borsnik K, Paik I, Shapiro T, Posner G. 2002. Antimalarial chemotherapeutic peroxides: Artemisin, Yinghaosu A and related compounds. *Int Parasitol* 432:1661-1667.
- Brandenburg, K. 1996-1998. Diamond, Version 2.0h, Crystal Impact, Gbr.
- Bruker. 1998. SHELXTL-NT. Version 5.1. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Crystal Clears 1.3.6. 2005. Rigaku/MSC, Inc., 9009 New Trails Drive, The Woodlands, TX 77381.
- Crystallographic software package. 1998. SHELXTL-NT V5.1. PC version, Bruker Analytical X-Ray Systems. Madison, WI, USA.
- Fidock D, Nomura T, Talley A, Cooper R, Dzekunov S, Ferdig M. 2000. Mutations in the *P. falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol Cell* 6:861-871.
- Foth B, McFadden G. 2003. The apicoplast: A plastid in *P. falciparum* and other apicomplexan parasites. *Int Rev Cytol*, 224: 57-110.
- Gardner M, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman, R, Carlton J. 2002. Genome sequence of the human malaria parasite *P. Falciparum*. *Nature* 419: 498-511.
- Ozawa T, Nagaoka S, Mitsuno K, Tsukiyama T. 1956. Synthesis of 3-aminomethylenedihydrofuran-2-ones. *J Pharm Soc Jpn* 75:1407-1410.
- Spek AL. 2003. Syngle-crystal structure validation with the program PLATON. *Apl Cryst* 36:7-13.
- Wamhoff H, Korte F. 1972. The synthesis of heterocyclic compounds starting from lactones, lactams and thio-lactones. *Synthesis* 151-175.
- Wellems TE. 2002. Plasmodium chloroquine resistance and search for a replacement antimalarial drug. *Science* 298: 124-126.
- White NJ. 1992. Antimalarial drug resistance: The pace quickens. *J Antimicro Chemother* 30: 571-585.
- WHO World Malaria Report 2005. (<http://rbm.who.int/wmr> 2005).
- Yapi A, Mustofa M, Valentin A, Chavignon O, Teulade J, Mallie M, Chapat J, Blache Y. 2000. New potential anti-malarial agents: Synthesis and biological activities of original diaza-analogs of phenanthrene. *Chem Pharm Bul* 48:1886-1889.