

Universidad Central de Venezuela
Facultad de Ciencias
Escuela de Química



“Síntesis de amidas derivadas del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético.
Evaluación de la potencial actividad antimalárica”.

Trabajo Especial de Grado
presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por la Br. Custodiana Colmenarez,
para optar al título de Licenciado
en Química.

Caracas, Octubre 2016.

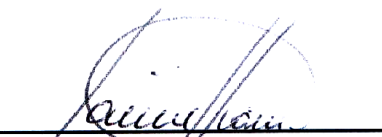
Yo Profesor Jaime Charris, Investigador del Laboratorio de Síntesis Orgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela y la Profesora María Rodríguez, Investigadora del Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certificamos que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

**“Síntesis de amidas derivadas del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético.
Evaluación de la potencial actividad antimalárica”.**

Que presenta la Br. Custodiana Colmenarez, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Síntesis Orgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección, durante los años 2015 y 2016, y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, Octubre de 2016.

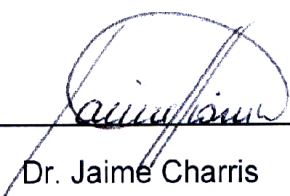


Dr. Jaime Charris

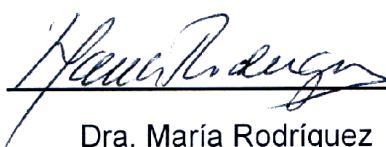


Dra. María Rodríguez

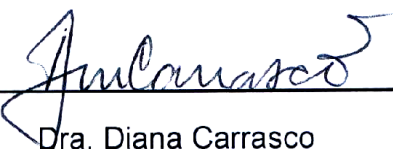
Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: "Síntesis de amidas derivadas del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético. Evaluación de la potencial actividad antimalárica". Presentado por la Br. Custodiana Colmenarez, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.




Dr. Jaime Charris
(Tutor)



Dra. María Rodríguez
(Tutora)



Dra. Diana Carrasco
(Jurado)



Dra. Beth Díaz
(Jurado)

Resumen

En esta investigación se propuso la síntesis de amidas derivadas del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**). En la ruta sintética empleada, se utilizaron como materiales de partida la 4,7-dicloroquinolina y el metiltioglicolato, para conseguir mediante una reacción de sustitución nucleofílica aromática el acetato 2-[4-(7-cloroquinolinil)sulfinil] de metilo (**35**), seguida de una hidrólisis básica. Por último, el ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**36**) se sometió a una reacción de condensación con diferentes aminoácidos esterificados, tales como: L-alanina, L-valina, L-leucina, L-fenilalanina y L-triptófano; en presencia de un agente activante como el EDCI, obteniendo los compuestos deseados con un rendimiento moderado. Las estructuras fueron caracterizadas mediante técnicas de IR, RMN¹H, RMN¹³C, así como análisis de dos dimensiones. Finalmente, se realizó una prueba preliminar *in vitro* para determinar el potencial antimalárico de los derivados sintetizados, en donde se observó que los compuestos (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-metilbutanoato de metilo (**32b**) y (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-(1*H*-indol-3-il) propanoato de metilo (**32e**) son buenos inhibidores de la polimerización de la hemina.

Índice general

Abreviaturas y símbolos	VII
Índice de figuras	IX
Índice de esquemas	X
Índice de espectros	XI
Índice de tablas	XII
1. Introducción	1
1.1. Ciclo de vida del <i>Plasmodium</i> y forma en que se propaga la infección.	3
1.2. Degradación de la hemoglobina.	5
1.3. Postulados sobre la formación de hemozoína.	6
1.4. Estrategias para controlar la malaria.	8
1.4.1. El uso de mosquiteros tratados con insecticidas y la fumigación de interiores con insecticidas de acción residual.	8
1.4.2. El uso de vacunas.	9
1.4.3. La quimioterapia.	10
2. Revisión Bibliográfica	18
3. Objetivos	26
3.1. Objetivos generales	26
3.2. Objetivos específicos	26
4. Metodología experimental	27
4.1. Materiales y equipos	27
4.2. Esquema de síntesis	28
4.3. Procedimiento experimental	29
4.3.1. Sección químico-sintética	29
4.3.1.1. Síntesis del acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfanil] de metilo (35)	29
4.3.1.2. Síntesis del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (36)	31

4.3.1.3. Síntesis de los aminoácidos esterificados (37a-37e)	32
4.3.1.4. Síntesis de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (32a-32e)	33
4.3.2. Sección biológica	39
4.3.2.1. Ensayo de inhibición de la formación de hemozoína	39
5. Resultados y discusión	40
5.1. Sección químico-sintética	40
5.2. Sección biológica	62
6. Conclusiones	64
7. Recomendaciones	65
8. Bibliografía	66

Abreviaturas y símbolos

β	Beta
°C	Grado centígrado
COSY	COrrrelation SpectroscopY
DCM	Diclorometano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDCI	Hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
Et ₃ N	Trietilamina
h	Hora
H ₂ O	Agua
HCl	Ácido clorhídrico
HETCOR	HETeronuclear CORrelation spectroscopy
%IFHz	%Inhibición de formación de hemozoína
IR	Espectroscopia infrarrojo
M	Concentración mol/L
MeOH	Metanol
μ M	Micromolar
mM	Milimolar
mg	Miligramo
min	Minutos
mL	Mililitro
mmol	Milimol
nm	Nanómetro
Na ₂ SO ₄	Sulfato de Sodio
NaCl	Cloruro de sodio

NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NH ₄ OH	Hidróxido de amonio
μL	Microlitro
<i>P.</i>	<i>Plasmodium</i>
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protones
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
rpm	Revolución por minuto
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
t.a.	Temperatura ambiente

Índice de figuras

Figura 1: Distribución de la malaria en el mundo, año 2015.	1
Figura 2: Distribución de la malaria en la República Bolivariana de Venezuela, año 2015. Semana epidemiológica N°26.	2
Figura 3: Distribución de casos por especie de <i>Plasmodium</i> en la República Bolivariana de Venezuela, año 2015.	3
Figura 4: Ciclo de vida del <i>Plasmodium</i> .	4
Figura 5: Estructura molecular de Hemo libre (Fe(II)PPIX) (1) y Hematina (OH ⁻ /H ₂ OFe(III)PPIX) (2) .	5
Figura 6: Estructura molecular de la β-hematina (3) .	6
Figura 7: Mecanismo propuesto para la síntesis del acetato 2-[4-(7-cloroquinolinil)sulfinil] de metilo (35) .	40
Figura 8: Mecanismo propuesto para la síntesis del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (36) .	44
Figura 9: Mecanismo propuesto para la síntesis de los aminoácidos esterificados (37a-37e) .	50
Figura 10: Mecanismo propuesto para la síntesis de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (32a-32e) .	52

Índice de esquemas

Esquema 1: Síntesis de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (32a-32e).	28
Esquema 2: Síntesis de los aminoácidos esterificados.	32

Índice de espectros

Espectro 1: Espectro de IR del compuesto 35 .	41
Espectro 2: Espectro de RMN ¹ H del compuesto 35 y su ampliación a campo bajo.	43
Espectro 3: Espectro de IR del compuesto 36 .	45
Espectro 4: Espectro de RMN ¹ H del compuesto 36 y su ampliación a campo bajo.	46
Espectro 5: Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 36 .	47
Espectro 6: Espectro del DEPT del compuesto 36 .	48
Espectro 7: Espectro del HETCOR del compuesto 36 y su ampliación a campo bajo.	49
Espectro 8: Espectro de IR del compuesto 32a .	54
Espectro 9: Espectro de RMN ¹ H del derivado 32a y su ampliación.	56
Espectro 10: Espectro de COSY del derivado 32a .	57
Espectro 11: Espectro de RMN ¹³ C del derivado 32a .	59
Espectro 12: Espectro de DEPT del derivado 32a .	60
Espectro 13: Espectro de HETCOR del derivado 32a .	61

Índice de tablas

Tabla 1: Características de los derivados (32a-32e) .	53
Tabla 2: %Inhibición de formación de hemozoina de los derivados (32a-32e) .	63

1. Introducción

La malaria o paludismo, es una enfermedad que se produce por la picadura del mosquito hembra *Anopheles*, infectada por organismos protozoarios provenientes del género *Plasmodium* (*P*). La sintomatología más frecuente por la infección con *Plasmodium* incluye resfriado, fiebre, sudoración, dolor de cabeza, fatiga, anorexia, náuseas, vómito y diarrea, llegando a ocasionar anemia, edema pulmonar, fallas renales, shock, malaria cerebral y en algunos casos, la muerte. Las cinco especies que causan la malaria en los seres humanos son: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*¹ y *P. knowlesi*².

Hay infecciones por varias de estas especies en diferentes regiones del mundo, principalmente en las zonas tropicales y subtropicales¹; afectando en el 2015, según lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor de 214 millones de personas en todo el mundo y causando 438 mil muertes. La mayoría de los casos reportados corresponden a la región de África, como se puede observar en la figura 1, siendo la población más afectada los niños menores de 5 años³.

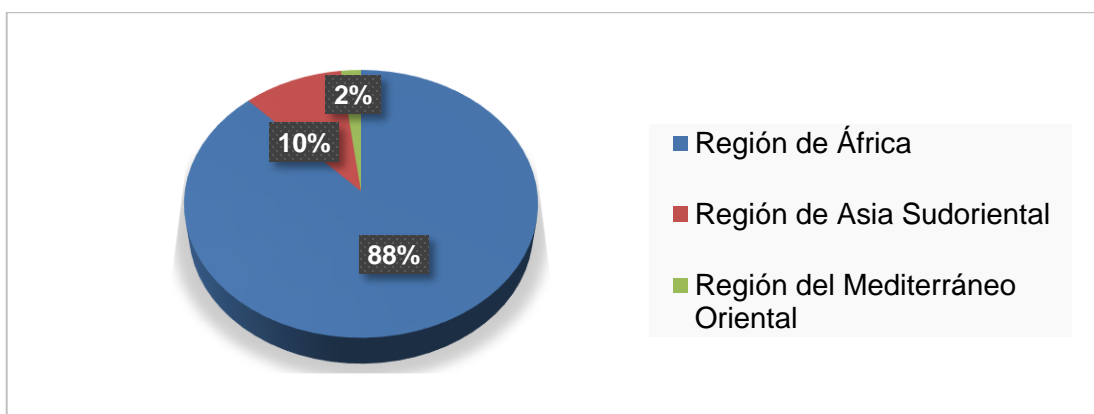


Figura 1: Distribución de la malaria en el mundo, año 2015⁴.

Lo anterior hace de la malaria un problema de salud pública, afectando actualmente cerca de 75 países⁴, en donde, la especie de *Plasmodium* con mayor número de casos registrados es el *P. faciparum*, sin embargo, el *P. vivax* tiene una distribución más amplia y predomina en muchos países fuera de África³.

En Venezuela, el índice que reportó el Ministerio del Poder Popular para la Salud fue de 40.652 casos de personas infectadas hasta agosto del 2014 y 63.732 casos hasta agosto del 2015; es decir, un incremento del 56,8%, siendo los estados Bolívar y Amazonas los más afectados, como se puede observar en la figura 2⁵. Por lo que esta enfermedad representa un grave problema en la actualidad, produciendo un alto índice de morbilidad y mortalidad.

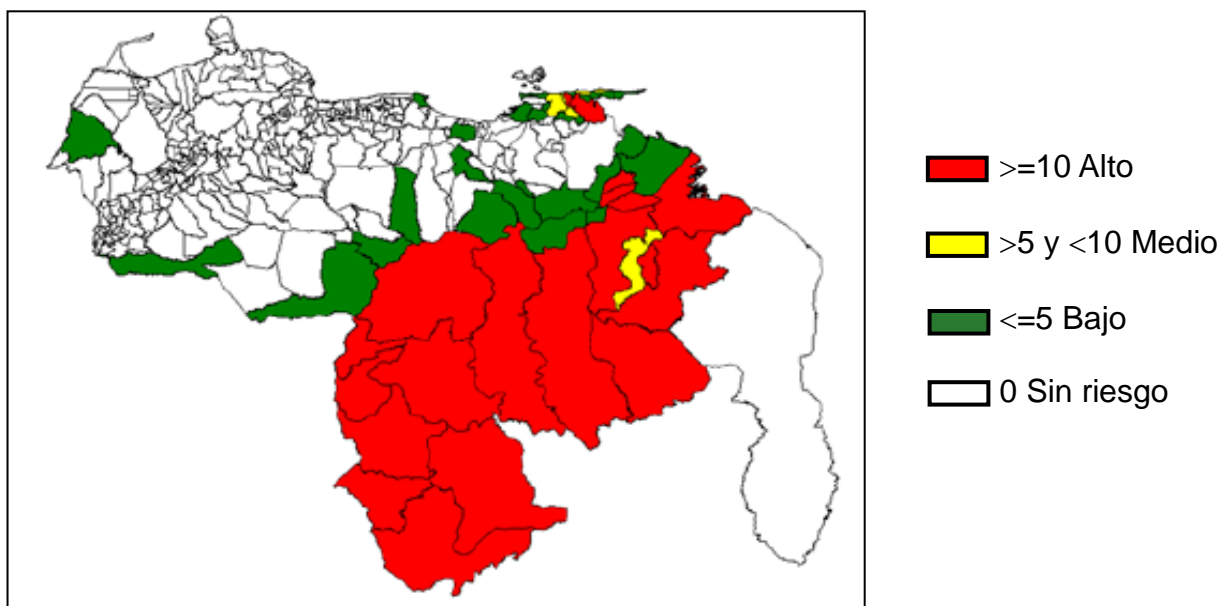


Figura 2: Distribución de la malaria en la República Bolivariana de Venezuela, año 2015. Semana epidemiológica N°26⁵.

Como se puede observar en la figura 3, el mayor número de casos le corresponde a personas afectadas por *P. vivax* con un 70%, seguido por *P. falciparum* con un 22%, siendo éstas, las dos especies más comunes que afectan a la población venezolana.

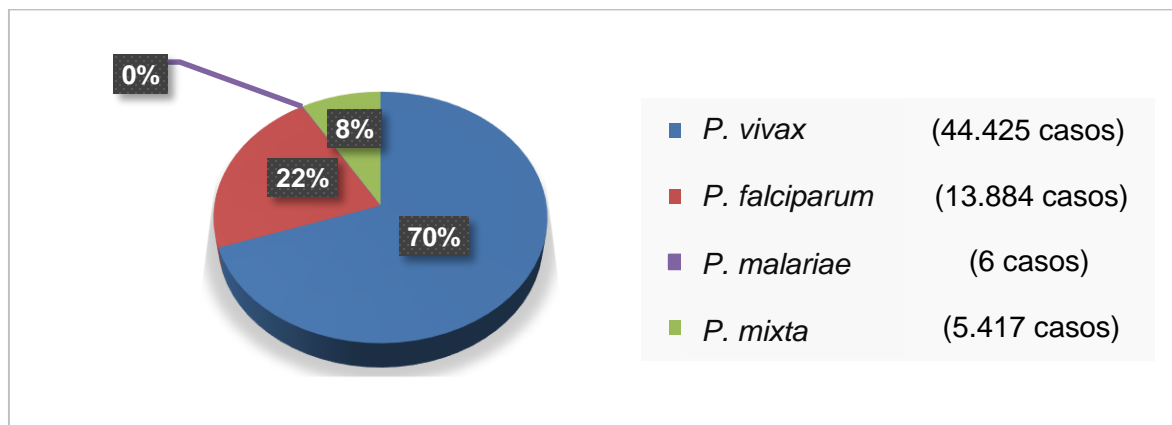


Figura 3: Distribución de casos por especie de *Plasmodium* en la República Bolivariana de Venezuela, año 2015⁵.

1.1. Ciclo de vida del *Plasmodium* y forma en que se propaga la infección.

Como se observa en la figura 4, el ciclo de vida del *P.* comienza con la picadura del mosquito hembra infectado, del género *Anopheles*. Dicho parásito entra al sistema circulatorio en la fase de esporozoíto, a través del cual llega al hígado, en donde crece dentro de las células de éste. Luego, bajo la fase de merozoíto, migra del hígado al sistema circulatorio para invadir a los glóbulos rojos, en donde continúa con su proceso de división. Finalmente, los glóbulos rojos ya infectados se rompen y liberan los merozoítos. Esta ruptura celular, genera algunas sustancias que causan sucesivamente la activación y liberación de compuestos asociados con los síntomas que presenta el paciente¹.

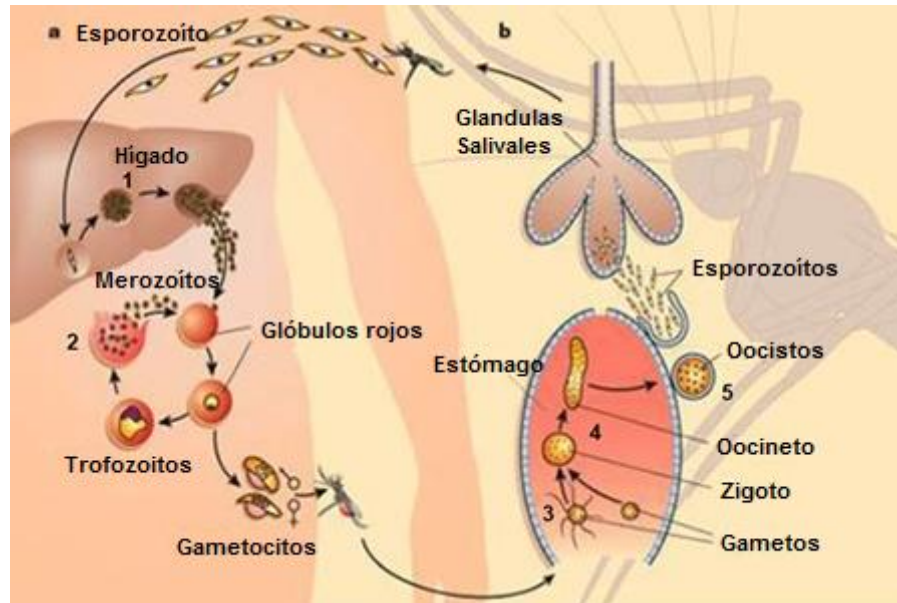


Figura 4: Ciclo de vida del *Plasmodium*⁶.

Es importante mencionar que el *P. vivax* y el *P. ovale* tienen la capacidad de permanecer inactivos por un tiempo prolongado en las células del hígado en su fase esporozoítica, ocasionando recaídas en la persona infectada. En el caso del *P. malariae*, la infección total de los glóbulos rojos puede llegar a durar muchos años y por último, en el caso del *P. falciparum*, los síntomas se pueden repetir debido a que los glóbulos rojos se pueden volver a infectar, trayendo como consecuencia que el parásito se multiplique nuevamente¹.

Cuando un mosquito hembra pica a un humano infectado puede adquirir gametocitos, los cuales son merozoitos transformados en formas sexuales, dichos gametocitos maduran en el estómago del mosquito formando zigotos, los que al crecer forman oocistos, que a su vez forman los esporozoitos. Los esporozoitos se liberan en la cavidad corporal del mosquito, y migran a sus glándulas salivales, donde llegan a ser transmitidos a otro humano sano cuando éste se alimenta de sangre¹.

1.2. Degradación de la hemoglobina.

El *P. falciparum* degrada la hemoglobina en su vacuola digestiva, debido a que le proporciona una fuente de nutrientes esenciales (aminoácidos), pero a su vez produce restos de hemo libre tóxico, como un subproducto^{7,8}. Por lo que se debe tomar en cuenta que incluso pequeñas cantidades de hemo libre son suficientes para interrumpir los procesos bioquímicos del parásito, causándole en algunos casos la muerte⁹.

El parásito realiza un proceso de desintoxicación, el cual consiste en la oxidación del hemo libre a hematina (figura 5), para producir la hemozoína o pigmento de la malaria¹⁰, un material insoluble^{11,12} constituido por β -hematina y otros componentes que no han sido caracterizados totalmente¹³, siendo la formación de hemozoína el destino principal de casi todo el hemo liberado¹⁰.

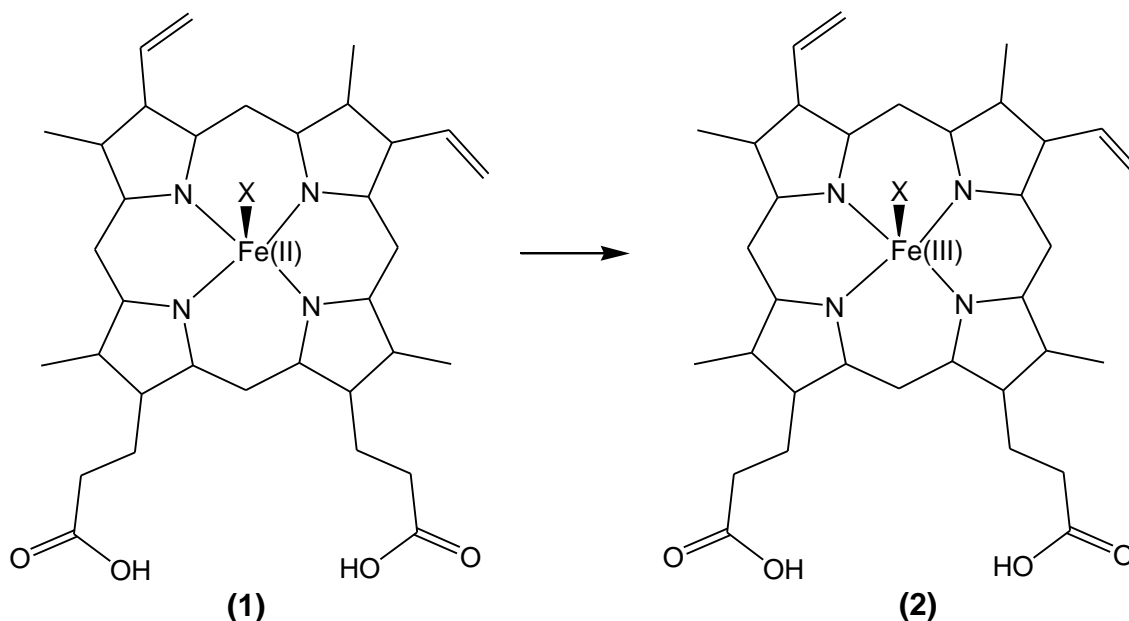


Figura 5: Estructura molecular de Hemo libre (Fe(II)PPIX) (1) y Hematina (OH⁻/H₂OFe(III)PPIX) (2)¹¹.

Cabe destacar que algunos estudios proponen que sólo 1/3 del hemo libre es el que polimeriza, mientras que el resto se degrada en un proceso no enzimático, produciendo acumulación de hierro⁷.

Como se observa en la figura 6, la β -hematina son unidades de porfirina con un centro metálico de Fe (III), que se encuentran enlazadas por medio del oxígeno de un propionato al centro metálico. Los dímeros que se obtienen, forman a su vez cadenas unidas por puente de hidrógeno^{11,12}.

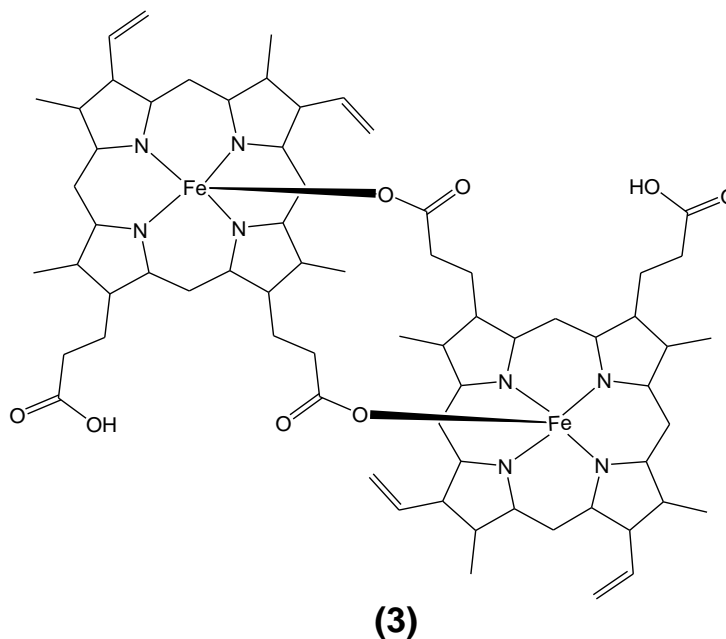


Figura 6: Estructura molecular de la β -hematina (3)¹¹.

1.3. Postulados sobre la formación de hemozoína.

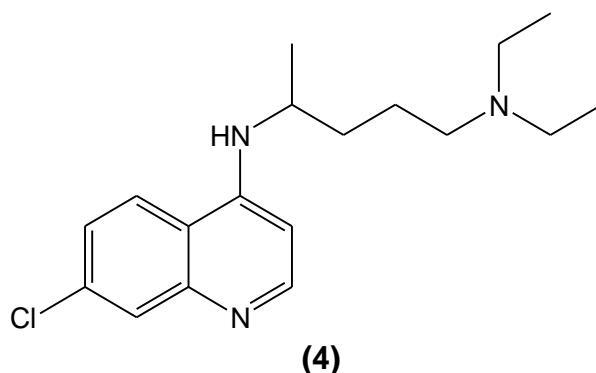
Existen varios postulados que mencionan cómo se promueve la desintoxicación del parásito, debido a las moléculas de hemo libre que se generan. Se plantea que la

proteína-2 rica en histidina del *Plasmodium falciparum* (Pfhrp-2), sirve como una plataforma catalítica para formar un complejo Pfhrp-2-hemo no tóxico, el cual es almacenado hasta que pueda ser procesado por otros medios⁹. En la Pfhrp-2 hay 98 residuos de histidina, de los cuales aproximadamente 50 son sitios de unión disponibles para el hemo libre⁸.

También se menciona que la formación del complejo Pfhrp-2-hemo parece ser un paso principal en la formación de hemozoína⁸. Incluso se propone que luego de la secreción del parásito dentro del citosol de los eritrocitos del hospedador, la Pfhrp-2 se lleva dentro de la vacuola digestiva junto con la hemoglobina y luego de su degradación, esta proteína se une con el hemo liberado, promoviendo la formación de hemozoína¹⁴.

Sin embargo, se ha llegado a postular que no se requiere de proteína o algún material específico del parásito para que inicie el proceso de polimerización¹⁵; o que la formación de hemozoína tiene cercanos paralelismos con varios procesos de biomineralización, lo que llevaría a que este sea un único proceso de este tipo¹⁶.

Al tener varios postulados con respecto a la formación de hemozoína se generan diversas hipótesis sobre el mecanismo de acción de los fármacos, lo que ayuda al diseño de nuevos antimaláricos, centrando su investigación en estos postulados. Como en el caso de la cloroquina **(4)** (un tratamiento antimalárico utilizado durante la segunda mitad del siglo XX, por su eficacia, seguridad y bajo costo¹⁷) para la que se sugieren dos hipótesis. En una se plantea que esta ejerce su actividad, causando acumulación de moléculas hemo que destruyen la integridad del parásito^{7,13}. Así como también se propone que, la formación del complejo Pfhrp-2-Hemo es inhibida por la cloroquina ya que ésta tiene mayor afinidad por el hemo, por lo que ambos formarían un complejo tóxico para el parásito⁹, siendo este uno de los mecanismos de acción propuestos más aceptados para esta droga¹⁸.



Como existe evidencia de que muchos medicamentos quinolónicos actúan inhibiendo la formación de hemozoína^{10,18}, esta es la principal fuente de investigación, en la que se basan la mayoría de los estudios actuales.

1.4. Estrategias para controlar la malaria.

A partir de 1892, se han desarrollado nuevas líneas de investigación contra la malaria alrededor del mundo que han generado resultados que contribuyen con la mejora y desarrollo de nuevos fármacos antimaláricos. Sin embargo, hasta el presente no se ha podido erradicar dicha enfermedad¹⁹. A pesar de ello, existen diferentes estrategias para tratar de controlar la malaria, a saber:

1.4.1. El uso de mosquiteros tratados con insecticidas y la fumigación de interiores con insecticidas de acción residual.

Los mosquiteros que se utilizan comúnmente para la prevención, están impregnados con insecticidas de tiempo prolongado, recomendado por la OMS su distribución es gratuita en las zonas de alto riesgo²⁰.

La fumigación de interiores con insecticidas de acción residual, es eficaz de 3 a 6 meses y su efectividad se obtiene cuando al menos el 80% de las casas de esa zona son fumigadas²⁰.

La única clase de insecticidas recomendada en la actualidad para los mosquiteros son los piretroides. Sin embargo, han aparecido cepas de mosquitos resistentes en los últimos años. De igual modo, se sugiere el uso de dos insecticidas, tanto para los mosquiteros como para la fumigación en las casas, para reducir de esta manera el riesgo a que los mosquitos desarrollen resistencia²⁰.

1.4.2. El uso de vacunas.

Se han preparado un gran número de candidatos a vacunas contra la malaria, sin embargo, aún no se dispone de una vacuna efectiva.

Valero, M. y colaboradores, evaluaron la vacuna SPf66 contra la malaria. Se observó que algunos individuos desarrollaron inmunidad contra el parásito, favoreciendo así la disminución del riesgo de infección. En contra parte, se obtuvo un valor de eficacia para la protección contra dicha enfermedad de 35,2%, haciéndola poco efectiva²¹.

Seder, R. y colaboradores, probaron clínicamente la vacuna PfSPZ, obteniendo una buena tolerancia a la malaria en los individuos vacunados vía intravenosa, pero la respuesta de los anticuerpos a la vacuna fue dependiente de la dosis, lo que indica que hay un límite inmunológico dependiente de la dosis para establecer una protección de alto nivel para la malaria. Por lo que se debe continuar con la investigación y desarrollo de una vacuna segura, que también cumpla con los estándares regulares para poder alcanzar el límite inmunológico²².

1.4.3. La quimioterapia.

La quimioterapia antimalárica sigue siendo una de las herramientas más efectivas hoy en día, para combatir esta enfermedad. Las drogas disponibles clínicamente para el tratamiento de la malaria se clasifican de varias maneras, a saber: fase del ciclo biológico en el que intervienen, de acuerdo a su estructura química o de acuerdo a su mecanismo de acción. En lo que se refiere a la acción sobre la fase del ciclo biológico, se tiene:

Los esquizonticidas tisulares: erradican al parásito en la etapa de desarrollo en el tejido del hígado, previniendo la entrada del mismo al sistema sanguíneo¹.

Los esquizonticidas sanguíneos: destruyen al parásito en la etapa eritrocítica¹.

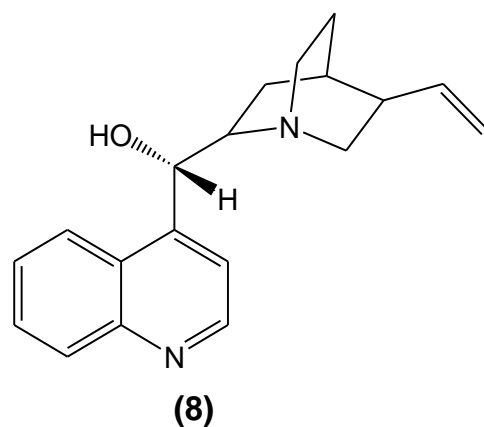
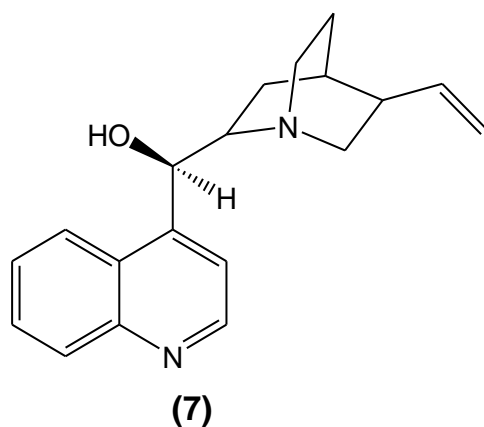
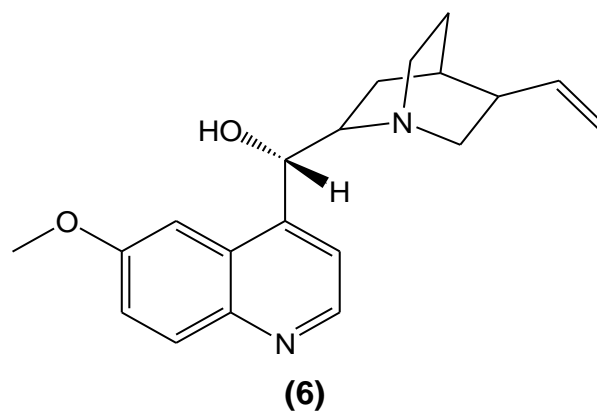
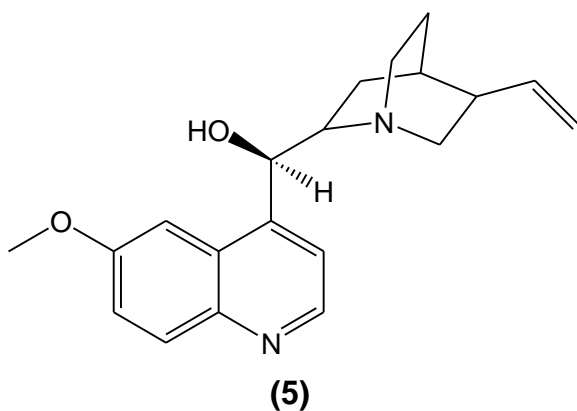
Los gametocitocidas: eliminan las formas sexuales de la *plasmodia* (gametocitos), los cuales son transferibles al mosquito, previniendo de ésta forma la transmisión de la enfermedad¹.

Los esporontocidas (esporozooitocidas): actúan contra los esporozoítos, siendo capaces de destruir estos organismos tan pronto entran al torrente sanguíneo, después de la mordida del mosquito¹.

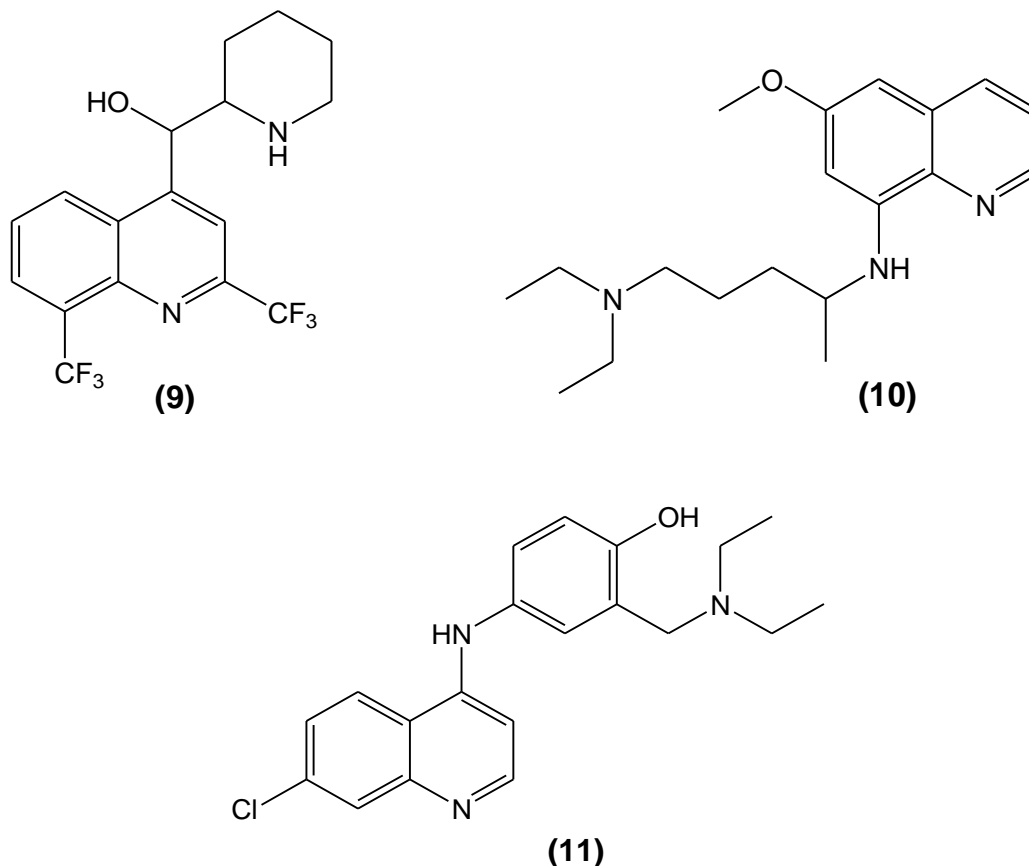
En lo que respecta a la clasificación por estructura, se encuentran:

Quinolinas

La *Cincona* (*Chinchona officinalis*) o árbol de la fiebre contiene una mezcla de alcaloides, entre los que poseen mejor potencial antimalárico están, la quinina **(5)**, la quinidina **(6)**, la cinconidina **(7)** y la cinconina **(8)**; siendo la quinidina más potente como antipalúdico pero más tóxico. La quinina actúa como esquizontocida sanguíneo y gametocida sobre las especies de *P. vivax* y *P. malariae*²³.

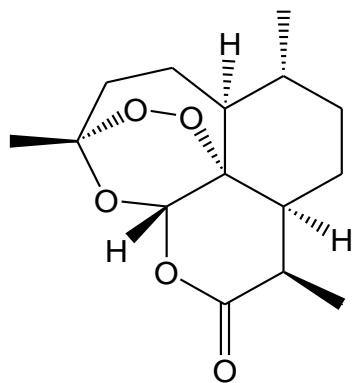


También se encuentran la mefloquina **(9)**, un esquizontocida sanguíneo; la primaquina **(10)**, el antipalúdico gametocida más eficaz en las cuatro especies de *Plasmodium*; la cloroquina **(4)** y su análogo amodiaquina **(11)**, con una eficacia antipalúdica superior²³.

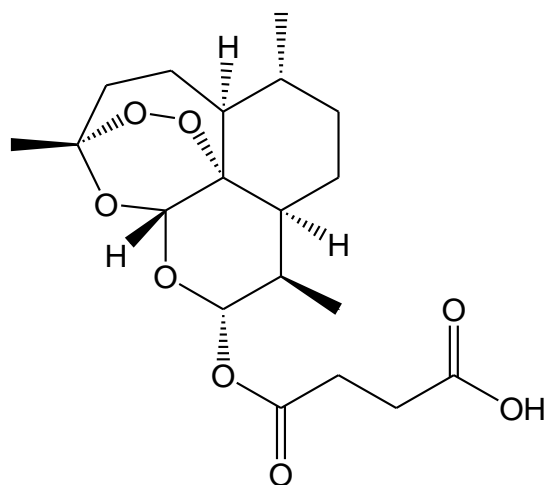


Artemisina y derivados

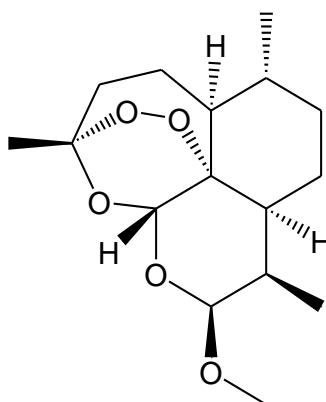
La artemisinina **(12)** es un metabolito secundario con actividad antimalárica extraído de la planta *Artemisia annua* L. Sus derivados, artesunato **(13)** y arteméter **(14)**, son hoy en día antimaláricos de uso clínico. La artemisina y sus derivados actúan rápidamente sobre los estadios eritrocíticos asexuados de *P. vivax*²³.



(12)



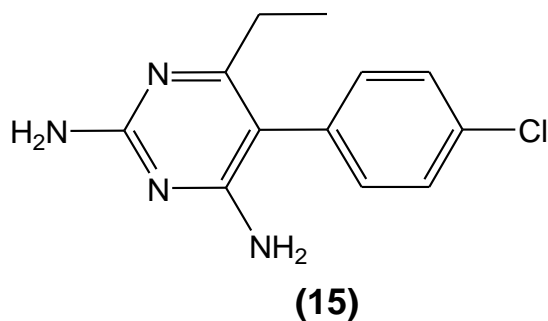
(13)



(14)

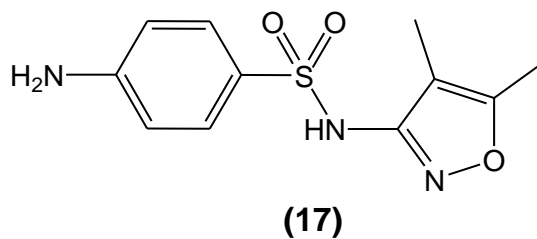
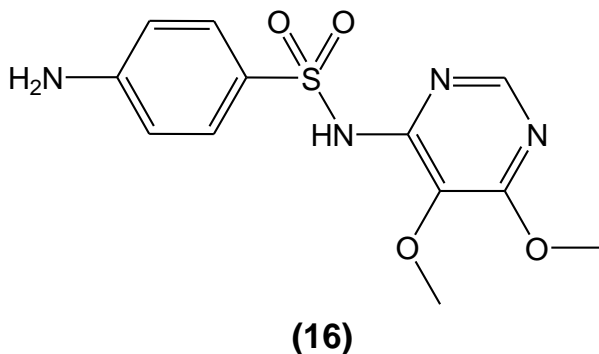
Pirimidinas

La droga más común con un núcleo de este tipo es la pirimetamina **(15)**, la cual se utiliza en infecciones por *Plasmodium* y *Toxoplasma*, afectando la división nuclear durante la formación de los esquizontes²³.



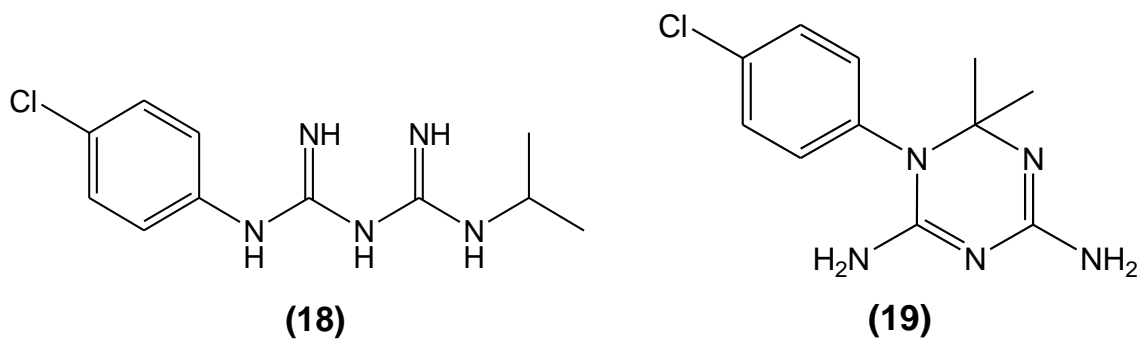
Sulfonamidas

La sulfadoxina **(16)** y la sulfisoxazol **(17)**, son esquizonticidas eritrocíticos de acción lenta²⁴.



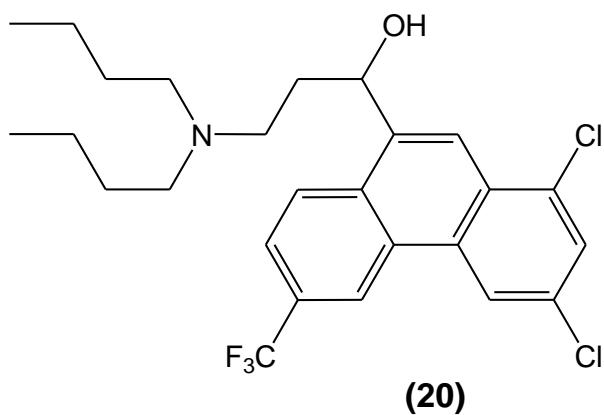
Biguanidinas

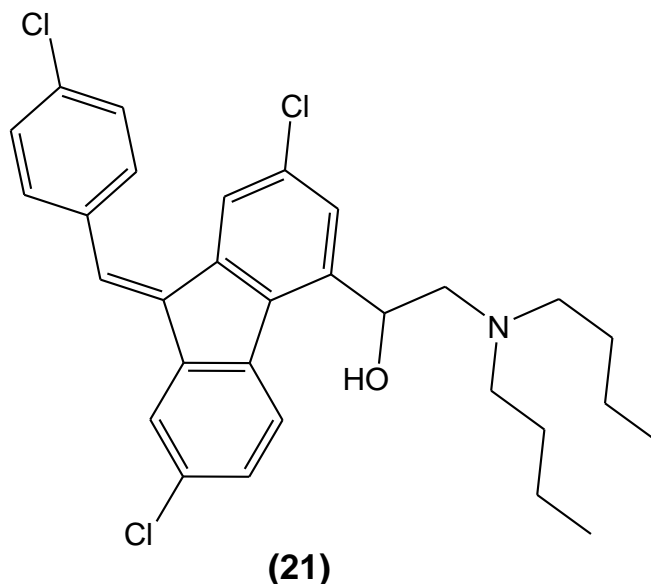
El proguanil **(18)** es un profármaco derivado de la biguanida²³, el cual actúa principalmente en el desarrollo temprano del esquizonte²⁵. El metabolito activo del proguanil, el cicloguanil **(19)**, es el responsable de la actividad antimalárica, luego de la administración de este profármaco²⁶.



Otros antipalúdicos

Otros fármacos que se han utilizado en el tratamiento de la malaria es la halofantrina **(20)**, con un fenantreno en su estructura principal, el cual es un esquizonticida sanguíneo con actividad selectiva contra las fases intraeritrocíticas del *Plasmodium*²⁷ y la lumefantrina **(21)**, un derivado del fluoreno²³.





Tomando en cuenta que existen varios postulados, a continuación se mencionan algunas de las clasificaciones según los mecanismos de acción de los medicamentos:

Los antifolatos, inhibidores de la síntesis de ácido fólico, como lo son las pirimidinas y las biguanidinas, que actúan inhibiendo selectivamente la enzima dihidrofolato reductasa²⁸, y las sulfonamidas que inhiben a la dihidropteroato sintasa²⁴.

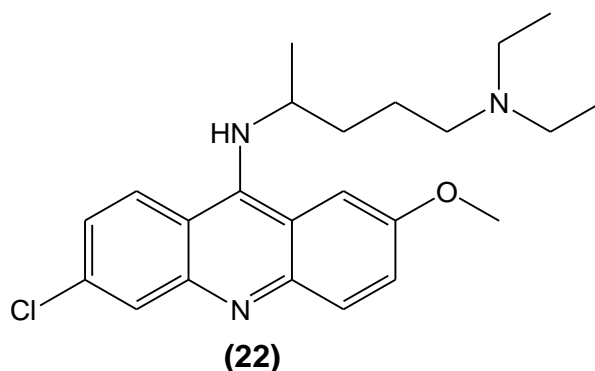
Los que interfieren en la síntesis de ácidos nucleicos, por una intercalación con el ADN del *P.* como algunas 4 y 8-aminoquinolinas, o por la unión a un componente de la hemozoína como la cloroquina, la quinina y la mefloquina²³.

Los que inhiben el hemo y la bomba de protones presente en la interfaz del parásito, como la halofantrina^{23,27}.

A pesar de la eficacia que han presentado los medicamentos, se han reportado a finales de 1950, casos de aparición de cepas resistentes de *Plasmodium* en varias regiones del mundo. Esta resistencia se define como la capacidad que tiene una cepa a sobrevivir y/o multiplicarse incluso bajo la administración de un fármaco²⁹. En la actualidad, la resistencia a los antimaláricos ha sido reportada por tres de las cinco especies de *Plasmodium*, *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. vivax*, variando considerablemente la distribución geográfica y las tasas de propagación³⁰. Debido a la situación que dificulta su erradicación, se ha estimulado el diseño y desarrollo de nuevos antipalúdicos, así como la búsqueda de nuevos blancos en el parásito que permitan evadir estos problemas³¹. Además, se ha venido empleando en la quimioterapia el uso de combinaciones de fármacos que actúen por mecanismos diferentes, tal como el Fansidar[®] (sulfa-pirimetamina), entre otras combinaciones comerciales³².

2. Revisión Bibliográfica

Como se mencionó anteriormente, existen compuestos orgánicos cuyo núcleo central es la quinolina, que son empleados clínicamente para el tratamiento de la malaria y otras patologías, entre ellos podemos mencionar a la cloroquina **(4)**, la quinina **(5)**, la mefloquina **(9)** y la quinacrina **(22)**²³.



A pesar de que estos medicamentos han sido usados como antimaláricos de primera línea, hoy se reportan en varias partes del mundo casos de cepas de *P. falciparum* resistentes a los mismos, aunque no se ha podido concretar con exactitud a qué se debe dicha resistencia. Sin embargo, han surgido propuestas para tratar de dar una explicación científica a esta problemática, entre estas propuestas está el hecho de que no se acumula suficiente medicamento en la vacuola digestiva del parásito³³.

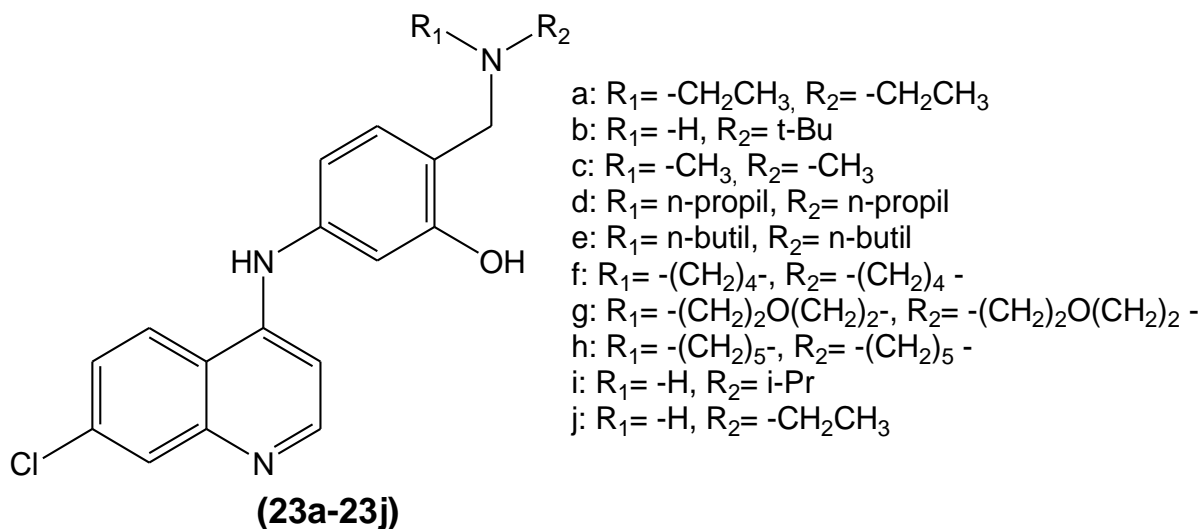
Por su parte, Bustamante L. y Giraldo L., mencionan tres mecanismos diferentes para tratar de explicar por qué el parásito acumula bajas concentraciones de cloroquina **(4)**, uno de ellos es a través del incremento en el pH lisosomal, un flujo rápido hacia el exterior y por último, la disminución de la entrada a la célula³⁴.

Posiblemente, las altas concentraciones, el uso indiscriminado, la mala calidad y problemas relacionados con la biodisponibilidad de las drogas usadas durante el tratamiento para lograr la muerte del parásito, sean otras de las causas de la resistencia a los medicamentos por parte de algunas cepas de *P. falciparum*³⁵.

De igual forma, Hastings I. indica que la resistencia del *P. falciparum* se debe a diferentes mutaciones por parte del parásito, que se han producido en algunas cepas en ciertas regiones en el mundo. De esta manera, cada grupo de personas que posean el parásito resistente tiene que ser estudiado científicamente. Como consecuencia, esta resistencia ha causado un incremento en la morbilidad y la mortalidad en esas regiones en específico³⁶.

La amodiaquina (**11**) posee una excelente actividad, por lo que se llegó a emplear como medicamento de primera línea para el tratamiento de dicha enfermedad. Sin embargo, una de las desventajas de la amodiaquina está relacionada con sus efectos secundarios entre los que podemos mencionar, la agranulocitosis y el daño hepático, observado en personas que estuvieron bajo este tratamiento^{37,38}, lo cual probablemente se debe a un uso prolongado o a las altas dosis suministradas. Se plantea que la toxicidad del fármaco sea por la formación de un metabolito electrófilo, el cual se puede unir a macromoléculas celulares e iniciar reacciones de hipersensibilidad³⁷.

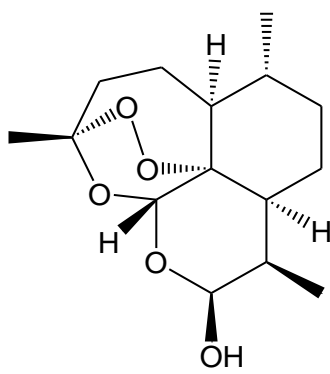
O'Neill P. y colaboradores, diseñaron y posteriormente sintetizaron análogos de la amodiaquina (**23a-23f**), en los cuales se intercambia el grupo $-OH$ por $-CH_2N(CH_3)_2$, con la finalidad de evitar la formación de metabolitos altamente reactivos del tipo quinonas, los resultados indican que el derivado isoquina (**23a**) mostró una excelente actividad³⁹.



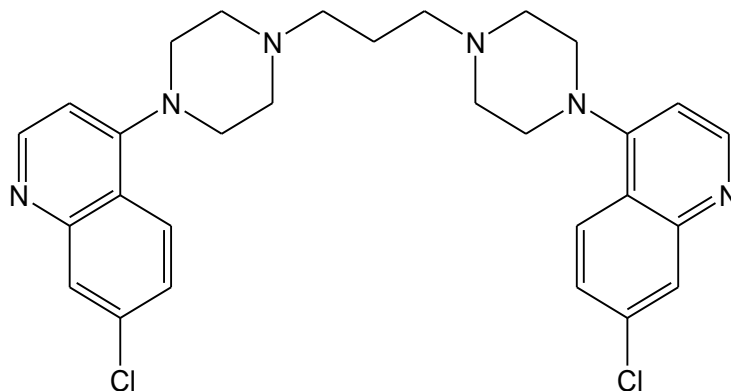
En la actualidad, la resistencia por parte del *Plasmodium* ha incrementado, poniendo en peligro los esfuerzos por erradicar el paludismo. Sin embargo, se está investigando la denominada terapia combinatoria, que consiste en la utilización de dos moléculas de reconocida actividad antimalárica. El uso de esta terapia parece una buena estrategia para retrasar la aparición de resistencia a medicamentos eficaces, ya que se indica que hay menor posibilidad de que surja un parásito que sea resistente a dos medicamentos con modos de acción no relacionados⁴⁰. Probablemente, de ésta manera se pueda contribuir con la erradicación de la resistencia, debido a que se acorta la duración del tratamiento, lo que disminuye el riesgo de parásitos resistentes que surgen a través de mutaciones que se generan durante la terapia⁴¹.

Medicamentos de uso clínico, tales como la cloroquina (**4**) y la sulfadoxina-pirimetamina, son cada vez menos eficaces, por lo que se han adoptado los tratamientos combinados con artemisina. Dos tratamientos que se han implementado más recientemente están relacionados con la combinación de dihidroartemisinina (**24**) y piperquina (**25**), comercialmente conocido como Artekin[®]; y el arteméter (**14**) y lumefantrina (**21**), comercialmente conocido como Co-Artem[®] ^{40,30}. En la primera

terapia, una de las moléculas que se emplea tiene como núcleo principal la quinolina, lo que permite resaltar que los derivados quinolínicos siguen dando un gran aporte a la terapia contra la malaria.

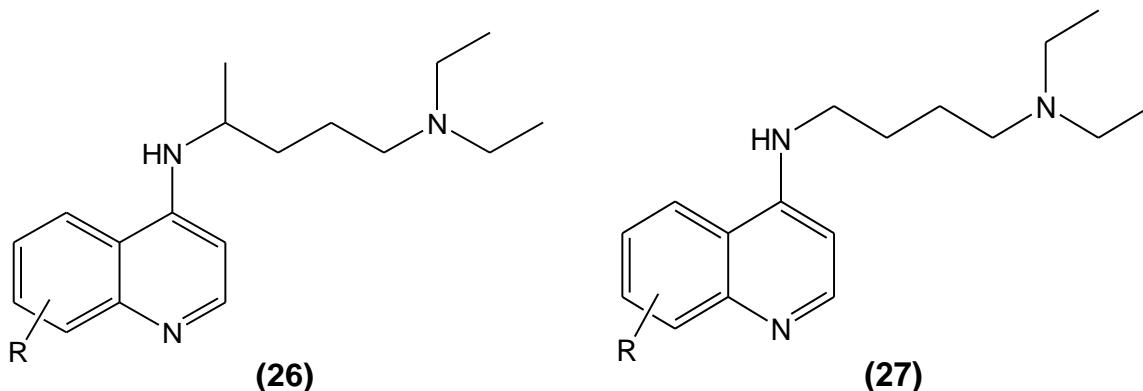


(24)

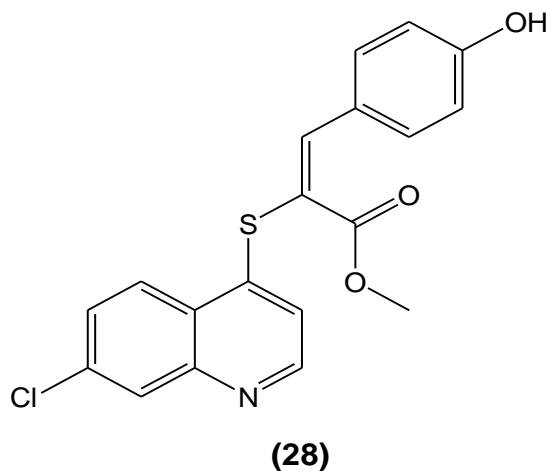


(25)

Madrid P. y colaboradores, evaluaron la actividad antimalárica de una serie de derivados de 4-aminoquinolinas (**26** y **27**) en cepas de parásitos resistentes a la cloroquina (**4**), donde modificaron los sustituyentes en el anillo de la quinolina. En dicho estudio demostraron que los análogos de la cloroquina **26** presentaron una débil actividad antimalárica, mientras que al modificar la cadena lateral, por una serie homóloga tipo derivados **27**, se logró encontrar compuestos con una buena actividad antimalárica, en estas cepas resistentes. Lo anterior indica que posiblemente la resistencia a la cloroquina (**4**) se deba al metilo en posición α al carbonilo⁴².

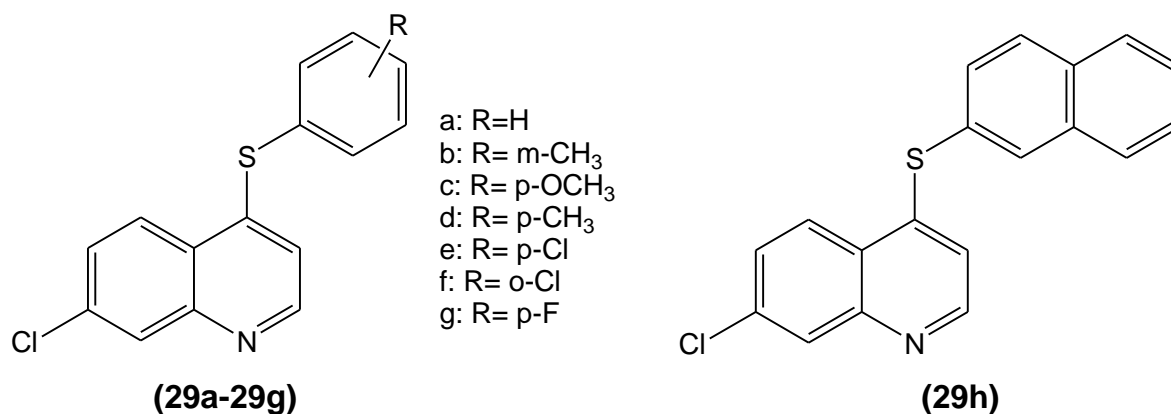


Nuestro grupo de investigación, ha logrado diseñar, sintetizar y evaluar biológicamente análogos del tipo (*E*)-2-(7-cloro-4-sulfanil-quinolinil)-3-(4-hidroxifenil)-acrilato de metilo (**28**), este compuesto demostró un buen potencial como antimalárico y antitumoral, así como efectos pro-oxidativos en las células tumorales⁴³.

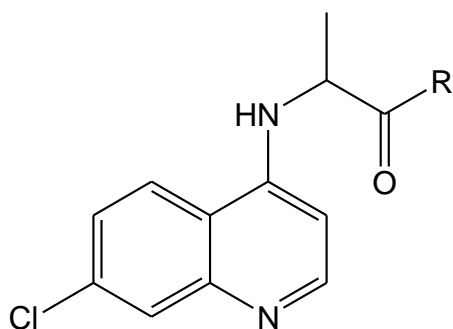


Recientemente, Salgueiro W. y colaboradores, sintetizaron derivados del 7-cloro-4-(fenilsulfenil) quinolina (**29a-29h**), para el estudio de la toxicidad y la actividad farmacológica en *Caenorhabditis elegans*. Se obtuvo que los compuestos **29c** y **29h** presentaron acción protectora contra el daño que produce el paraquat, disminuyendo la cantidad de especie oxidativas que este genera, mediante la estimulación de las

enzimas antioxidantes del *Caenorhabditis elegans*, tales como la catalasa y la superóxido dismutasa⁴⁴.

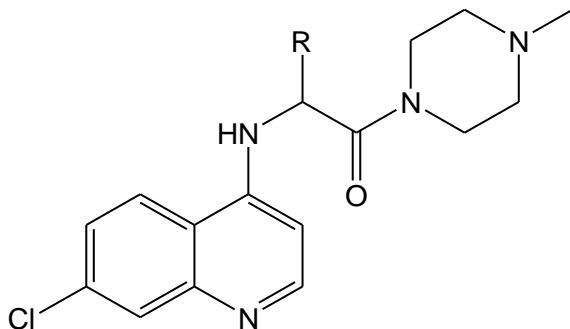


Sinha M. y colaboradores, sintetizaron y evaluaron la actividad antimalárica de derivados de 4-aminoquinolinas (**30a-30f** y **31a-31c**), sustituidos con aminoácidos. La primera serie (**30a-30f**) mostró que, con el uso de la N-metilpiperazina **30a** hubo mejor actividad antimalárica, lo que llevó a la síntesis de la serie (**31a-31c**), manteniendo constante el sustituyente N-metilpiperazina y empleando diferentes grupos -R, es decir, diferentes aminoácidos en las síntesis. Finalmente, se observó que de las dos series, los compuestos **30f** y **31c** presentaron un buen índice de selectividad y a su vez, todos inhibieron la formación de β -hematina⁴⁵.



(30a-30f)

- a: R= N-metilpiperazina
- b: R= N,N-dietilpropano-1,3-diamina
- c: R= 1-fenilpiperazina
- d: R= N,N-dimetilpropano-1,3-diamina
- e: R= 2-(piperidin-1-il)etanamina
- f: R= N,N-dietiletano-1,2-diamina



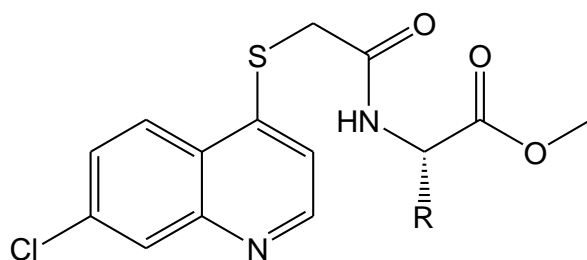
(31a-31c)

- a: R= -H
- b: R= -CH₂Ph
- c: R= -CH₂CH₂SCH₃

Son muchos los intentos que se han llevado adelante para tratar de obtener una vacuna para prevenir la malaria, sin embargo, aún no se ha logrado encontrar una con la efectividad y seguridad requerida para ser empleada clínicamente, esto hace que el uso de la quimioterapia, a pesar de la resistencia que han presentado algunas cepas de *P. falciparum* a los medicamentos de uso clínico, en algunas regiones del planeta, continúe vigente, por lo que se hace necesario seguir investigando en esta dirección⁴⁶.

En base a lo descrito en los antecedentes, nuestro grupo de investigación, en la Unidad de Síntesis de Medicamentos de la Facultad de Farmacia, de la Universidad Central de Venezuela, fundamentado también en experiencias previas, emprendió un proyecto dirigido al diseño, síntesis y evaluación biológica de compuestos orgánicos con un

núcleo central conformado por la 7-cloroquinolina sustituida en la posición 4 con diferentes grupos isósteros, con la finalidad de desarrollar análogos con potencial uso quimioterapéutico, entre esos grupos está la incorporación de cadenas hidrocarbonadas unidas por espaciadores a través de un átomo de azufre a la posición 4 de la quinolina. En este proyecto se propuso la inclusión de algunos L-aminoácidos esterificados al ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético para obtener los derivados tipo amidas (**32a-32e**), a ser evaluados como potenciales agentes antimaláricos.



(32a-32e)

- a:R= -CH₃
- b:R= -CH(CH₃)₂
- c:R= -CH₂CH(CH₃)₂
- d:R= -CH₂C₆H₅
- e:R= -CH₂-3-indol

3. Objetivos

3.1. Objetivos generales:

- Sintetizar derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético.
- Caracterizar mediante las técnicas de IR, RMN¹H y RMN¹³C los compuestos sintetizados.
- Evaluar la potencial actividad antimalárica *in vitro* de los compuestos sintetizados.

3.2. Objetivos específicos:

- Sintetizar y caracterizar el acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfinil] de metilo **(35)**.
- Sintetizar y caracterizar el ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético **(36)**.
- Sintetizar los aminoácidos esterificados **(37a-37e)**, tales como la L-alanina **(38a)**, la L-valina **(38b)**, la L-leucina **(38c)**, la L-fenilalanina **(38d)** y el L-triptófano **(38e)**.
- Sintetizar y caracterizar los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético **(32a-32e)**.
- Evaluar la actividad antimalárica *in vitro* de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético **(32a-32e)**.

4. Metodología experimental

4.1. Materiales y equipos

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fischer-Johns y no fueron corregidos.

Los espectros de IR fueron tomados en un espectrofotómetro Shimadzu modelo 470, empleando pastillas de KBr. La absorbancia es reportada en cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY y HETCOR fueron tomados en un espectrómetro JEOL ECLIPSE 270 (270 MHz). Se emplearon como solventes: CDCl_3 y DMSO-d_6 . Los desplazamientos químicos (δ) son reportados en partes por millón (ppm), empleando como patrón interno trazas de CHCl_3 y DMSO .

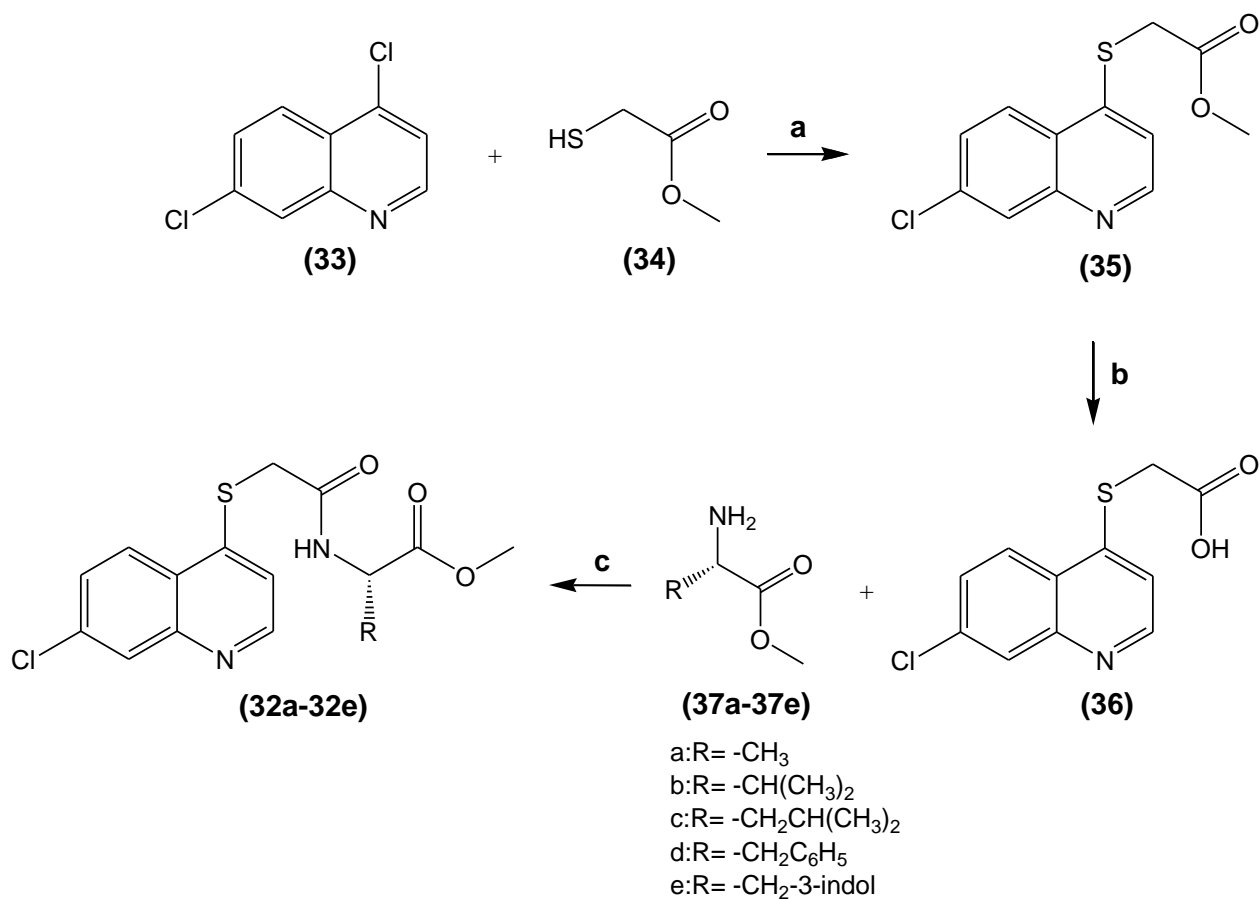
Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron en cromatofolios de sílica gel marca Merck tipo 60F25H, de un espesor de capa de 0,2 mm. Se empleó una lámpara de UV de 254/365 nm para el análisis de las placas.

Las cromatografías en columna se realizaron con Sílica Gel, 60 Å 0,06-0,2 mm.

La evaluación preliminar *in vitro* de la actividad antimalárica se realizó en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, según protocolo.

La absorbancia en la prueba *in vitro* de la actividad antimalárica se determinó en un fotómetro Bio-Rad modelo 550, a una longitud de onda de 405 nm.

4.2. Esquema de síntesis:



Reactivos y condiciones:

a: Et₃N/MeOH. Reflujo, 24h. b: NaOH 1N. Reflujo, 1h. c: DMF, EDCI, DMAP. 12h, ta.

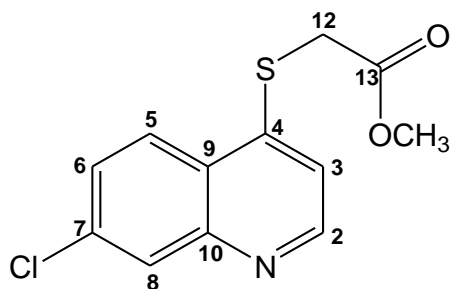
Esquema 1: Síntesis de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (32a-32e).

4.3. Procedimiento experimental

4.3.1. Sección químico-sintética

4.3.1.1. Síntesis del acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfanil] de metilo (35):

En un balón de dos bocas, provisto de un sistema de reflujo, se añadieron 3,3 mmol de metiltioglicolato, 2,15 mmol de trietilamina y 15 mL de metanol seco. Se dejó bajo agitación por 10 minutos para luego adicionar 2,6 mmol de 4,7-dicloroquinolina. Finalmente, se dejó agitando a la temperatura de reflujo por 24 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se dejó enfriar y el solvente se eliminó a presión reducida. Posteriormente, se añadió diclorometano (DCM) y se lavó con agua. Se agregó sulfato de sodio anhidro a la capa orgánica, se filtró y se rotaevaporó. El sólido obtenido se recristalizó empleando una mezcla metanol:agua⁴³.

**(35)**

Características: sólido blanco.

Rendimiento: 84,5%.

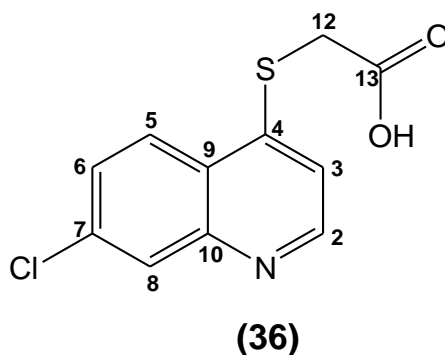
Punto de fusión: (94-96) °C (Lit.⁴³ 96-98 °C).

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 1728,0 (C=O); 1196,8 y 1168,0 (C-O).

RMN-¹H δ (ppm) CDCl₃: 3,76 (s, 3H, OCH₃); 3,87 (s, 2H, H-12); 7,24 (d, 1H, $J_{3-2}=4,94$ Hz, H-3); 7,50 (dd, 1H, $J_{6-8}=2,21$ Hz, $J_{6-5}=8,29$ Hz, H-6); 8,03-8,06 (m, 2H, H-5 y H-8); 8,72 (d, 1H, $J_{2-3}=4,94$ Hz, H-2).

4.3.1.2. Síntesis del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (36):

En un balón de dos bocas, equipado con un sistema de reflujo, se añadieron 3 mmol del éster **35**, 3,3 mL de solución de NaOH 1N. Se dejó bajo agitación y calentamiento a 60°C por 1 h. Culminada la reacción, se enfrió y se acidificó con HCl al 10% hasta llegar a un pH=3. Finalmente, se filtró el sólido obtenido⁴⁷.



Características: sólido blanco.

Rendimiento: 92,3 %.

Punto de descomposición: 210 °C.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 1699,2 (C=O).

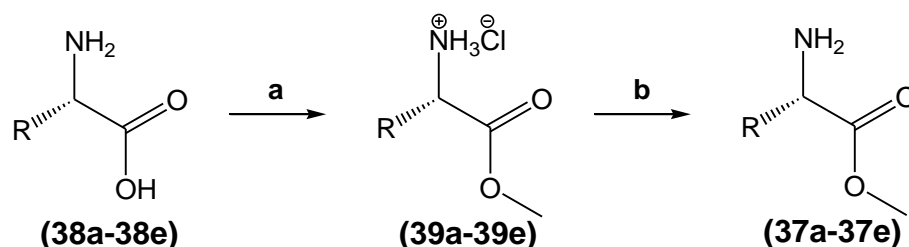
RMN-¹H δ (ppm) DMSO- d_6 : 4,18 (s, 2H, H-12); 7,39 (d, 1H, $J_{3-2}=4,94$ Hz, H-3); 7,68 (dd, 1H, $J_{6-8}=2,24$ Hz, $J_{6-5}=9,15$ Hz, H-6); 8,06 (d, 1H, $J_{8-6}=1,48$ Hz, H-8); 8,11 (d, 1H, $J_{5-6}=9,15$ Hz, H-5); 8,75 (d, 1H, $J_{2-3}=4,94$ Hz, H-2).

RMN-¹³C δ (ppm) DMSO- d_6 : 33,54 (C12); 117,53 (C3); 124,73; 125,78 (C5); 127,83 (C6); 128,84 (C8); 135,05; 146,79; 147,99; 151,31 (C2); 170,08 (C13).

4.3.1.3. Síntesis de los aminoácidos esterificados (37a-37e):

En un balón de una boca provisto de un agitador, se añadieron 4,26 mmol del aminoácido y 4,2 mL de metanol, enfriando la solución en un baño de hielo-sal. Luego, se agregó gota a gota, 4,47 mmol de cloruro de tionilo recién destilado. Se dejó bajo agitación por 12 h. Culminado el tiempo, se eliminó el solvente a presión reducida y se lavó varias veces empleando metanol, obteniendo el aminoácido esterificado como clorhidrato⁴⁸.

Para liberar el aminoácido esterificado, éste se pesó en un beaker, se le añadió hielo y agua destilada, enfriando la solución. Se agitó y se añadió hidróxido de amonio hasta llegar a un pH entre 10 y 11. Posteriormente, se realizaron extracciones sucesivas con DCM. Se secó, se filtró y se eliminó el solvente a presión reducida.



Reactivos y condiciones:

a: SOCl₂/MeOH, 0°C, 12h. b: NH₄OH/H₂O

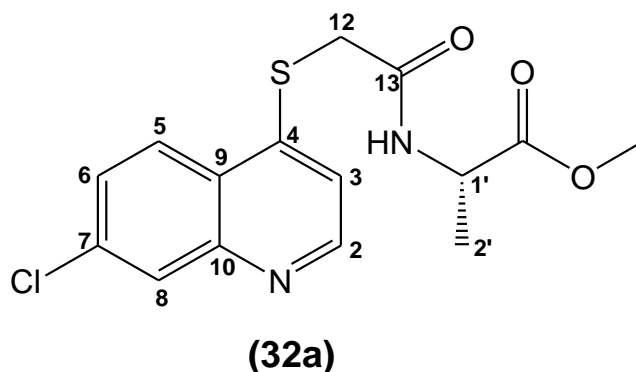
Esquema 2: Síntesis de los aminoácidos esterificados.

4.3.1.4. Síntesis de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**):

En un balón de una boca, provisto de un agitador, se añadieron 0,6 mmol del ácido **36** y 2 mL de *N,N*-dimetil-formamida (DMF) seca. Se agitó por 10 minutos a -10°C , y luego se adicionaron 0,8 mmol de clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) y 0,4 mmol de 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) con 1 mL de DMF seca, dejando bajo agitación por 30 min. Finalmente, se adicionó lentamente 0,65 mmol del aminoácido esterificado y 1 mL de DMF seca, se agitó por 30 min a 0°C . Se dejó bajo agitación a temperatura ambiente por 12 h. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo con DCM, se lavó con NaHCO_3 al 10% y luego con HCl al 10%. Se añadió desecante (NaSO_4 anhidro), se filtró y se eliminó el solvente a presión reducida⁴⁹.

Nota: Se purificó por cromatografía en columna el derivado **32a** empleando como fase móvil cloroformo.

- (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]propanoato de metilo (**32a**):



Características: sólido amarillo pálido.

Rendimiento: 5,4 %.

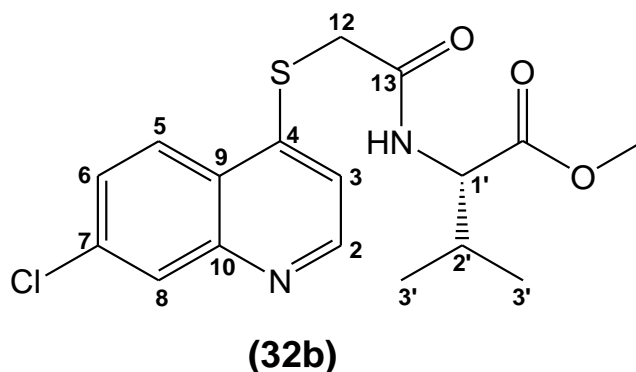
Punto de fusión: 138-140 °C.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 3216,0 (N-H); 1744,0 (C=O éster); 1680,0 (C=O amida).

RMN- ^1H δ (ppm) CDCl_3 : 1,32 (d, 3H, $J=7,91$ Hz, H-2'); 3,64 (s, 3H, OCH_3); 3,84 (s, 2H, H-12); 4,53-4,58 (m, 1H, H-1'); 7,09 (d, 1H, $J=6,91$ Hz, N-H); 7,17 (d, 1H, $J_{3-2}=4,70$ Hz, H-3); 7,52 (dd, 1H, $J_{6-8}=2,23$ Hz, $J_{6-5}=8,90$ Hz, H-6); 8,03 (d, 1H, $J_{5-6}=8,91$ Hz, H-5); 8,08 (d, 1H, $J_{8-6}=2,00$ Hz, H-8); 8,71 (d, 1H, $J_{2-3}=4,70$ Hz, H-2).

RMN- ^{13}C δ (ppm) CDCl_3 : 18,10 (C2'); 35,09 (C12); 48,56 (C1'); 52,55 (OCH_3); 116,88 (C3); 124,74 (C5); 127,85 (C6); 129,02 (C8); 136,19; 145,44; 147,93; 150,35 (C2); 166,17 (CO); 172,71 (C13).

- (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-metilbutanoato de metilo (**32b**):



Características: sólido naranja.

Rendimiento: 41,8 %.

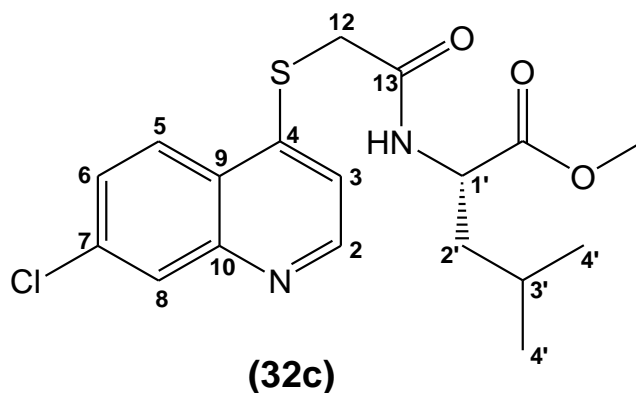
Punto de fusión: (98-102) °C.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3296,0 (N-H); 1737,0 (C=O éster); 1651,0 (C=O amida).

RMN-¹H δ (ppm) CDCl₃: 0,69 (d, 3H, $J_{3'-2}=16,07$ Hz, H-3'); 2,01-2,13 (m, 1H, H-2'); 3,63 (s, 3H, OCH₃); 3,88 (s, 2H, H-12); 4,47-4,52 (m, 1H, H-1'); 7,01 (d, 1H, $J=8,42$ Hz, N-H); 7,19 (d, 1H, $J_{3-2}=4,70$ Hz, H-3); 7,53 (dd, 1H, $J_{6-8}=1,97$ Hz, $J_{6-5}=8,91$ Hz, H-6); 8,04-8,07 (m, 2H, H-5 y H-8); 8,70 (d, 1H, $J_{2-3}=4,70$ Hz, H-2).

RMN-¹³C δ (ppm) CDCl₃: 17,56 (C3'); 31,14 (C2'); 35,14 (C12); 52,21 (OCH₃); 57,58 (C1'); 116,90 (C3); 124,72 (C5); 127,89 (C6); 129,09 (C8); 136,20; 145,35; 147,95; 150,34 (C2); 166,45 (CO); 171,72 (C13).

- (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-4-metilpentanoato de metilo (**32c**):



Características: sólido naranja.

Rendimiento: 22,3 %.

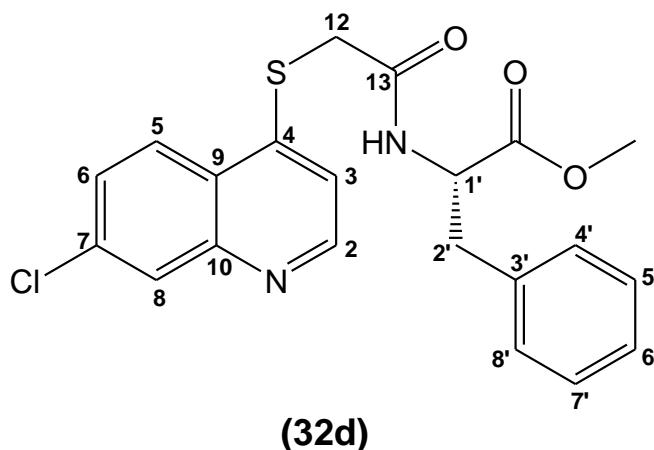
Punto de fusión: (116-118) °C.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 3216,0 (N-H); 1744,0 (C=O éster); 1680,0 (C=O amida).

RMN- ^1H δ (ppm) CDCl_3 : 0,74 (d, 3H, $J=11,12$ Hz, H-4'); 1,23-1,46 (m, 1H, H-3'); 1,50-1,60 (m, 2H, H-2'); 3,63 (s, 3H, OCH_3); 3,86 (s, 2H, H-12); 4,57-4,60 (m, 1H, H-1'); 6,90 (d, 1H, $J=7,91$ Hz, N-H); 7,17 (d, 1H, $J_{3-2}=5,70$ Hz, H-3); 7,52 (dd, 1H, $J_{6-8}=2,24$ Hz, $J_{6-5}=8,91$ Hz, H-6); 8,03 (d, 1H, $J_{5-6}=8,91$ Hz, H-5); 8,07 (s, 1H, H-8); 8,70 (s, 1H, H-2).

RMN- ^{13}C δ (ppm) CDCl_3 : 22,65 (C4'); 24,85 (C3'); 35,05 (C12); 41,26 (C2'); 51,22 (C1'); 52,35 (OCH_3); 116,99 (C3); 124,71 (C8); 127,85 (C6); 129,08 (C5); 136,18; 145,34; 147,99; 150,34 (C2); 166,38 (CO); 172,70 (C13).

- (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-fenilpropanoato de metilo (**32d**):



Características: sólido marrón.

Rendimiento: 23,7 %.

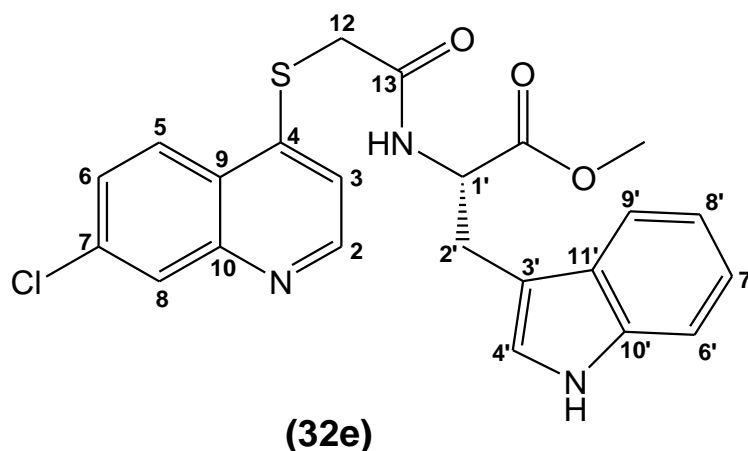
Punto de fusión: (146-148) °C.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3296,0 (N-H); 1750,4 (C=O éster); 1660,8 (C=O amida).

RMN-¹H δ (ppm) CDCl₃: 2,99-3,04 (m, 2H, H-2'); 3,68 (s, 3H, OCH₃); 3,79 (s, 2H, H-12); 4,78-4,83 (m, 1H, H-1'); 6,79-6,93 (m, 6H, N-H y Ar-H); 7,00 (d, 1H, $J_{3-2}=4,46$ Hz, H-3); 7,53 (dd, 1H, $J_{6-8}=2,24$ Hz, $J_{6-5}=9,02$ Hz, H-6); 7,96 (d, 1H, $J_{5-6}=8,91$ Hz, H-5); 8,10 (d, 1H, $J_{8-6}=2,21$ Hz, H-8); 8,62 (d, 1H, $J_{2-3}=4,70$ Hz, H-2).

RMN-¹³C δ (ppm) CDCl₃: 34,73 (C12); 37,59 (C2'); 52,48 (OCH₃); 53,40 (C1'); 116,46 (C3); 124,65 (C5); 127,21; 127,81 (C6); 128,52; 128,85; 135,17; 136,24; 145,46; 147,72; 150,27 (C2); 166,28 (CO); 171,40 (C13).

- (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-(1*H*-indol-3-il)propanoato de metilo (32e):



Características: sólido beige.

Rendimiento: 18,8 %.

Punto de fusión: (186-188) °C.

IR $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3312,0 (N-H); 1728,0 (C=O éster); 1632,0 (C=O amida).

RMN-¹H δ (ppm) CDCl₃: 3,13-3,19 (m, 2H, H-2'); 3,59 (s, 3H, OCH₃); 4,00 (s, 2H, H-12); 4,57-4,63 (m, 1H, H-1'); 6,95-7,10 (m, 2H, H-7' y H-8'); 7,17 (s, 1H, H-4'); 7,27 (d, 1H, $J_{3-2}=4,94$ Hz, H-3); 7,35 (d, 1H, $J=7,91$ Hz, H-9'); 7,50 (d, 1H, $J=7,91$ Hz, H-6'); 7,66 (dd, 1H, $J_{6-8}=2,21$ Hz, $J_{6-5}=8,90$ Hz, H-6); 8,04-8,09 (m, 2H, H-5 y H-8); 8,60 (d, 1H, $J_{2-3}=4,94$ Hz, H-2); 8,82 (d, 1H, $J=8,64$ Hz, N-H); 10,91 (s, 1H, NH-5').

RMN-¹³C δ (ppm) CDCl₃: 27,66 (C12); 34,51 (C2'); 52,46 (OCH₃); 54,05 (C1'); 109,78; 112,03; 117,74 (C3); 118,53; 119,05; 121,58; 124,28 (C5); 124,69; 125,81; 127,66; 127,75 (C6); 128,81 (C8); 134,98; 136,75; 147,14; 147,91; 151,18 (C2); 167,41 (CO); 172,50 (C13).

4.3.2. Sección biológica

4.3.2.1. Ensayo de inhibición de la formación de hemozoína:

Una solución 4 mM de clorhidrato de hemina, disuelta en dimetilsulfóxido (DMSO) (5,2 mg/mL), se distribuyó en microplacas de 96 pozos. Luego, se añadieron por triplicado, diferentes concentraciones de los compuestos (100 μ M - 1 mM) disueltos en DMSO (50 μ L), para obtener concentraciones finales por pozo de 25 mM - 125 μ M. Los controles negativos de solvente contenían 50 μ L de H₂O y 50 μ L de DMSO, y el control positivo de cloroquina (2,5 mM - 125 μ M/pozo, 50 μ L)⁵⁰.

La formación de β -hematina se inició con la adición de buffer fosfato (100 μ L, 0,2 M, pH: 4,4) a cada uno de los pozos. Luego, las microplacas se incubaron a 37°C durante 48 h, permitiendo así la completa reacción y se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min. Se descartó el sobrenadante (hemina no cristalizada) y el sedimento (β -hematina formada) se lavó dos veces con 200 μ L de DMSO para eliminar totalmente la hemina libre. Finalmente, se disolvió en 200 μ L de NaOH 0,2 N, para así hidrolizar la β -hematina a hemina. En otra placa, se diluyeron los agregados solubilizados 1:2 con NaOH 0,1 N y se les determinó la absorbancia a 405 nm, obteniendo los resultados expresados como %Inhibición de formación de hemozoína (%IFHz)⁵⁰.

5. Resultados y discusión

5.1. Sección químico-sintética

El esquema de síntesis planteado para los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**) (Esquema 1), se inició mediante la síntesis del intermediario acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfinil] de metilo (**35**), por medio de la reacción entre la 4,7-dicloroquinolina (**33**) con el metiltioglicolato (**34**). En esta reacción se empleó metanol como solvente y la trietilamina para obtener un mejor nucleófilo. Posiblemente la síntesis de este compuesto es mediante una reacción de sustitución nucleofílica aromática en la posición 4 del anillo quinolínico, mecanismo que se muestra en la figura 7.

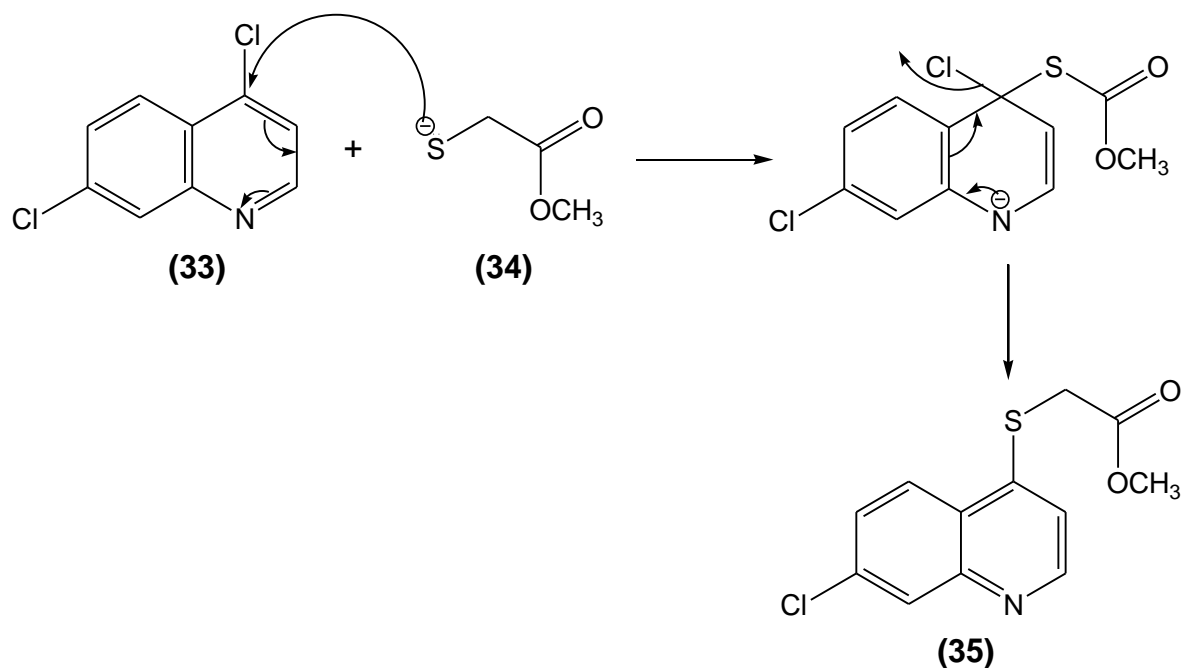
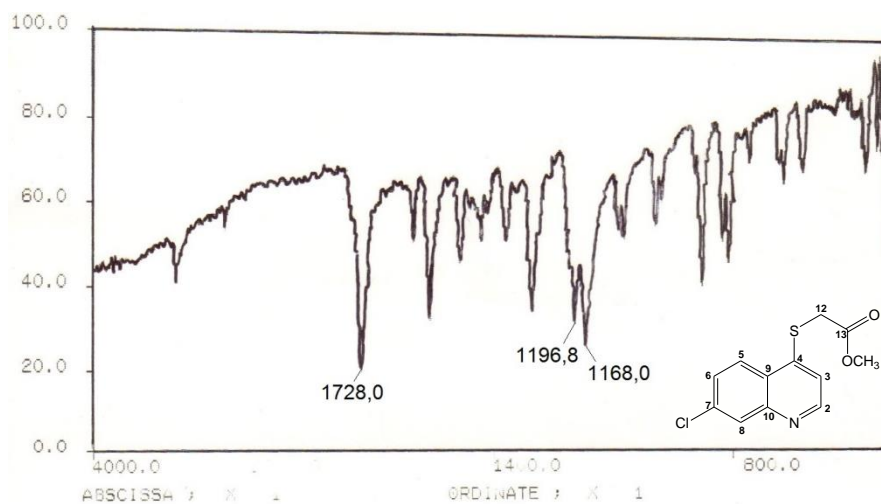


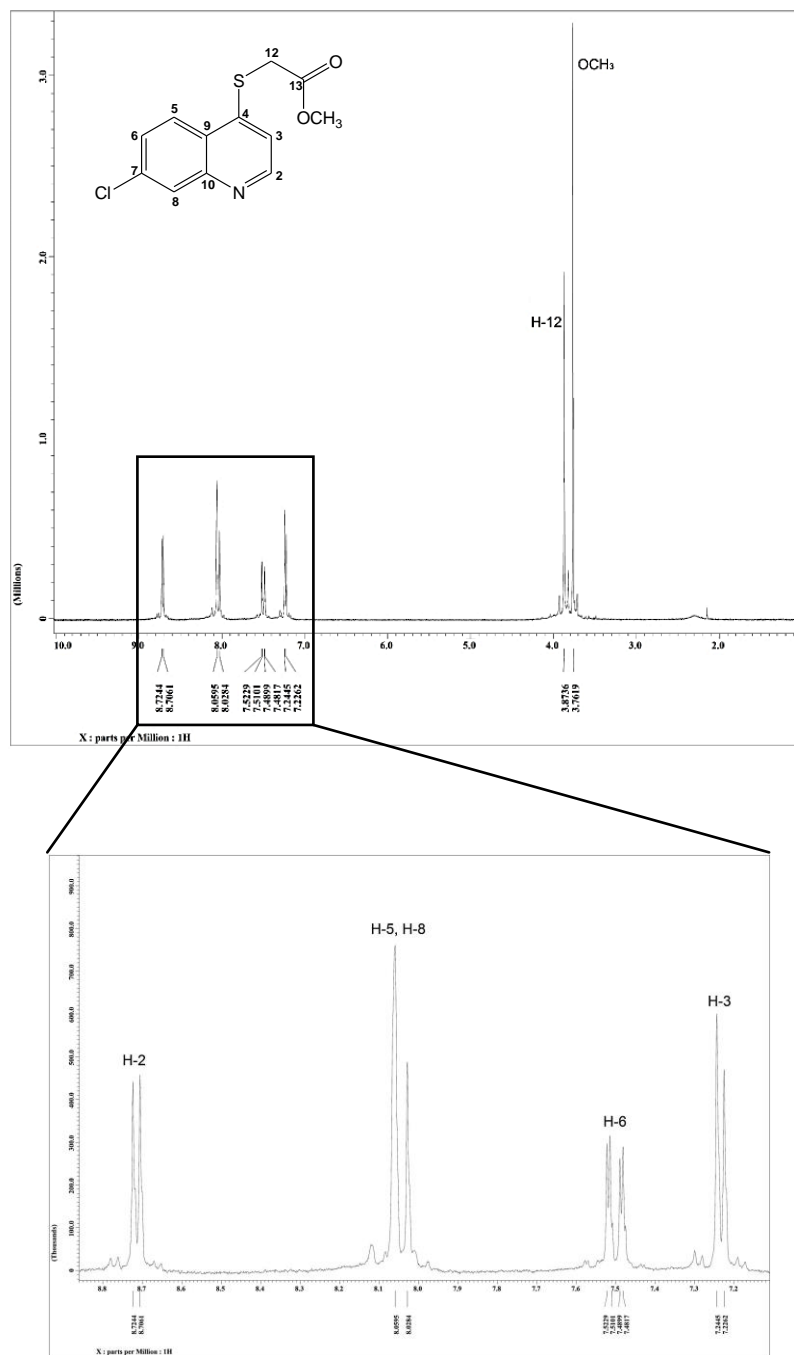
Figura 7: Mecanismo propuesto para la síntesis del acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfinil] de metilo (**35**).

El acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfinil] de metilo (**35**) se obtuvo como un sólido blanco, con un rendimiento de 84,5 % y un punto de fusión de (94-96) °C. En el espectro de infrarrojo de este compuesto (Espectro 1) se observa una banda característica en 1728,0 cm^{-1} , que pertenece al alargamiento simétrico del enlace carbono-oxígeno del grupo carbonílico (C=O) del éster metílico, y dos bandas en 1196,8 y 1168,0 cm^{-1} que corresponden al alargamiento asimétrico del enlace C-O del éster metílico.



Espectro 1: Espectro de IR del compuesto **35**.

Con el espectro de RMN¹H (Espectro 2) se pudo corroborar la obtención de este compuesto, sintetizado previamente por nuestro grupo de investigación. A campo alto se aprecia un singlete en 3,76 ppm que integra para tres protones, asignables a los protones del éster metílico (OCH₃) y un singlete en 3,87 ppm que integra para dos protones por lo que se asignó inequívocamente a los protones del grupo metilénico (H-12). En la zona a campo bajo se observaron dos dobletes centrados en 7,24 ppm y en 8,72 ppm, los cuales integran para un protón cada uno, con una constante de acoplamiento *orto* de 4,94 Hz, correspondientes a H-3 y H-2, respectivamente. Se aprecia un doblete de doblete centrado en 7,50 ppm con dos constantes de acoplamiento, una *meta* de 2,21 Hz y una *orto* de 8,29 Hz, que integra para un protón y fue asignado a H-6. Finalmente, se observa un multiplete entre 8,03 a 8,06 ppm asignado a los protones H-5 y H-8.



Espectro 2: Espectro de RMN^1H del compuesto **35** y su ampliación a campo bajo.

Sintetizado el éster **35**, se procedió a preparar el ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**36**), mediante una hidrólisis básica empleando NaOH. El mecanismo propuesto para esta síntesis se muestra en la figura 8 y consiste en el ataque de la base al carbono carbonílico, seguido de la salida del grupo metoxi, por medio de una reacción adición-eliminación, obteniendo finalmente el ácido carboxílico **36** como producto.

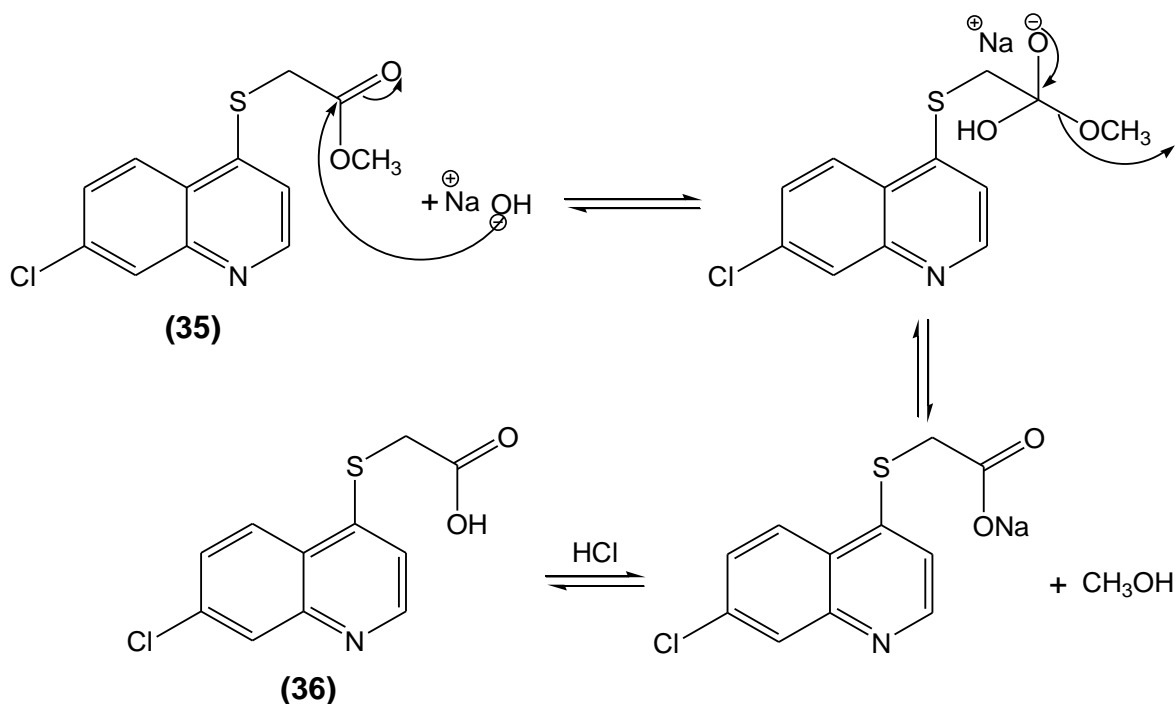
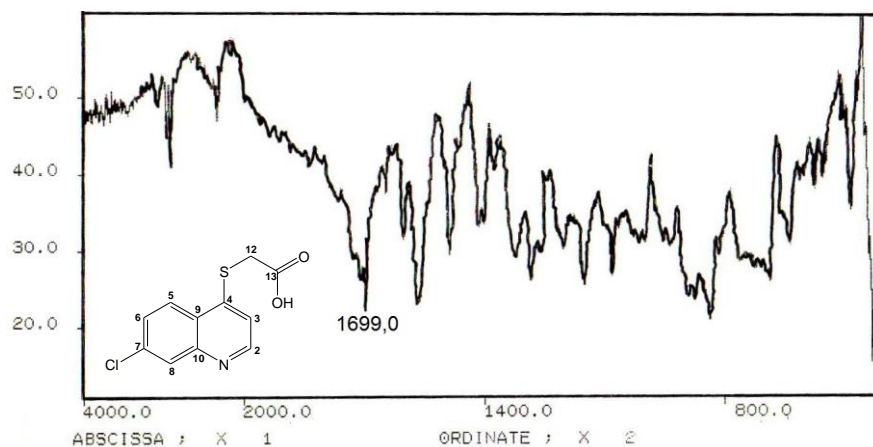


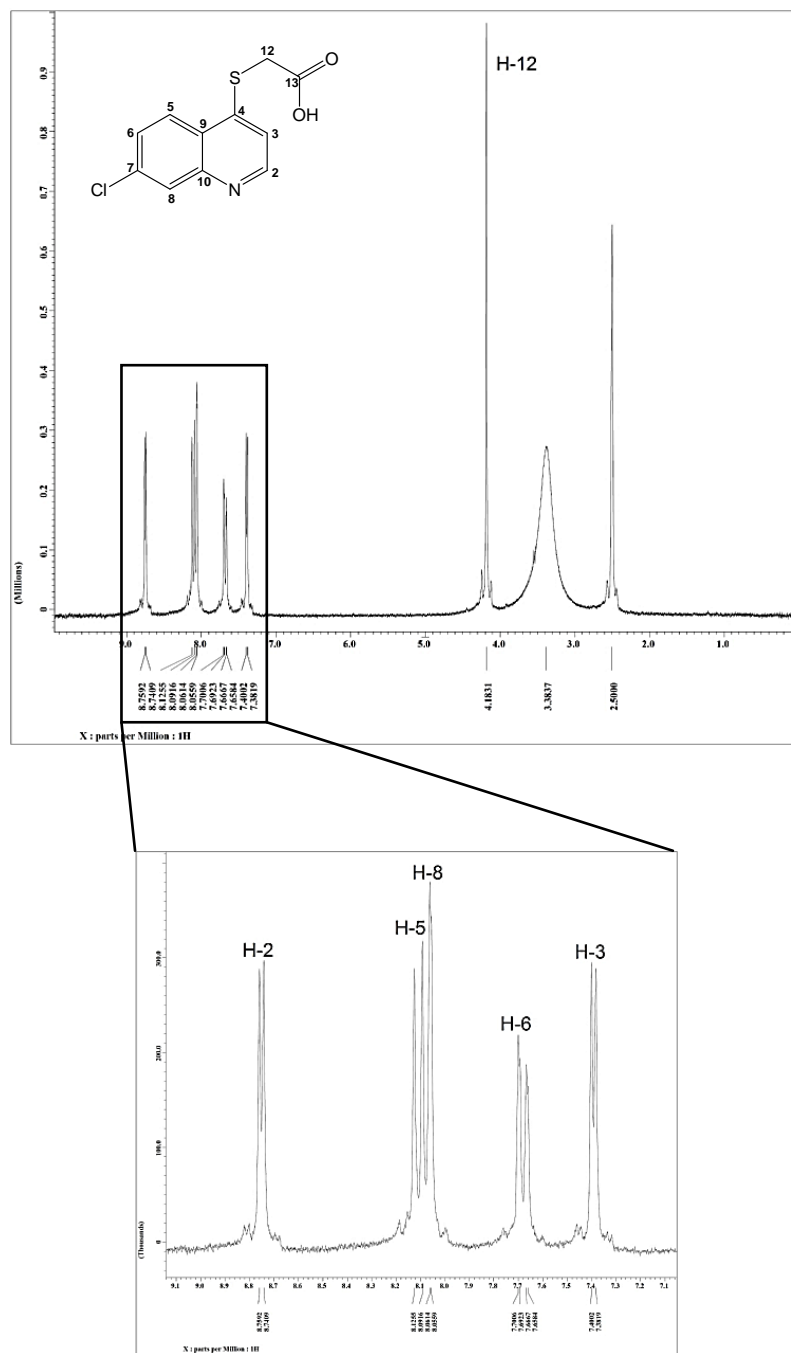
Figura 8: Mecanismo propuesto para la síntesis del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**36**).

El ácido **36** se obtuvo como un sólido blanco, con un rendimiento de 92,3 %, que se descompone a partir de 210 °C, cabe destacar que este es el primer reporte del compuesto en la literatura. En el espectro de IR de éste compuesto (Espectro 3), se observa una señal en 1699,2 cm^{-1} correspondiente a la tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$ del ácido carboxílico, y se observó la desaparición de las dos bandas del alargamiento asimétrico del enlace $\text{C}-\text{O}$ del grupo éster, al compararlo con el material de partida.



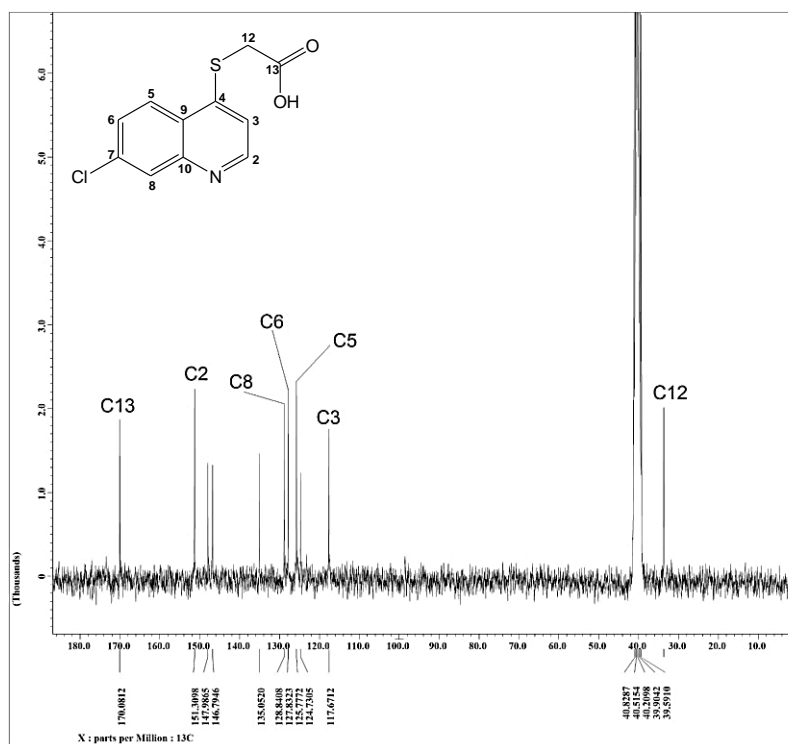
Espectro 3: Espectro de IR del compuesto **36**.

Este ácido **36** presenta en el espectro de RMN¹H (Espectro 4) un singlete en 4,18 ppm que integra para dos protones, asignado a los protones del grupo metilénico (H-12) de la estructura. Las señales presentes a campo bajo corresponden a los protones del sistema aromático. Así, los dobletes ubicados en 7,39 y 8,75 ppm que integran para un protón cada uno, con constantes de acoplamiento *orto* de 4,94 Hz, se asignaron a los protones H-3 y H-2, respectivamente. El doblete de doblete centrado en 7,68 ppm que integra para un protón se asignó a H-6 ya que posee una constante de acoplamiento *orto* de 9,15 Hz y una constante *meta* de 2,24 Hz. Los dobletes centrados en 8,06 y 8,11 ppm con constantes de acoplamiento de 1,48 Hz y 9,15 Hz, respectivamente, fueron asignados a los protones H-8 y H-5, a diferencia del éster **35** que mostró un multiplete correspondiente a ambos protones.

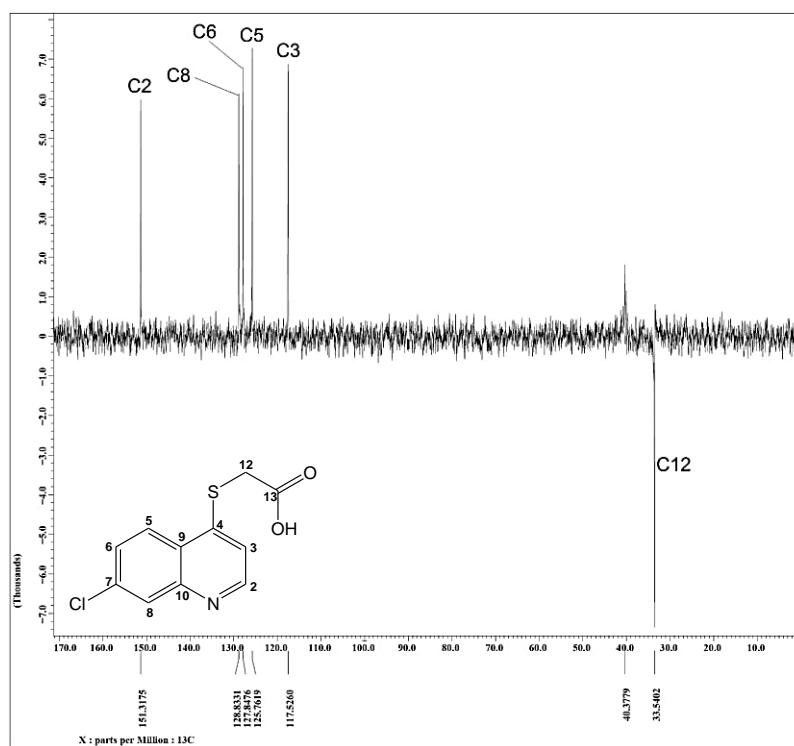


Espectro 4: Espectro de RMN ^1H del compuesto **36** y su ampliación a campo bajo.

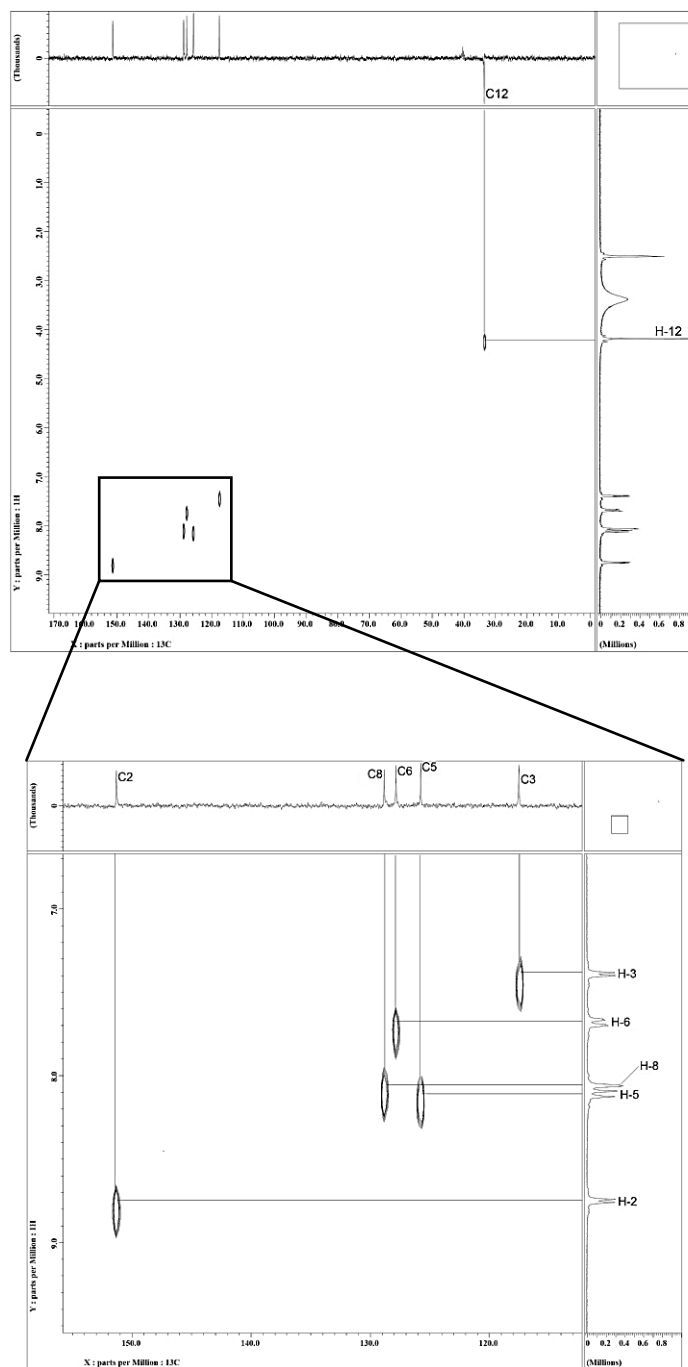
En el espectro de RMN¹³C del compuesto **36** (Espectro 5) se observaron las 11 señales que corresponden a los carbonos que presenta la estructura. De esta manera, las señales en 170,08 y 33,54ppm fueron asignadas al carbono carbonílico (C13) y al carbono metilénico (C12), respectivamente, lo que se confirma con el análisis DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) (Espectro 6) donde se pueden distinguir los carbonos dependiendo del número de hidrógenos unidos a él. Así mismo, se verificaron las señales de los cuatro carbonos cuaternarios (124,73; 135,05; 146,79; 147,99 ppm) presentes en la estructura. A campo bajo, se observaron las señales del sistema aromático en 117,53; 125,78; 127,83; 128,84 y 151,31 ppm correspondientes a los carbonos C3, C5, C6, C8 y C2, respectivamente. Dichas señales fueron asignadas inequívocamente empleando el análisis de dos dimensiones HETCOR (HETeronuclear CORrelation spectroscopy) (Espectro 7) donde se registra la correlación bidimensional ¹³C-¹H a un enlace.



Espectro 5: Espectro de RMN¹³C del compuesto **36**.



Espectro 6: Espectro del DEPT del compuesto **36**.



Espectro 7: Espectro del HETCOR del compuesto **36** y su ampliación a campo bajo.

Los aminoácidos **(38a-38e)** se esterificaron empleando SOCl_2 y metanol, reacción que se rige por el mecanismo mostrado en la figura 9, en donde se observa el ataque al azufre del cloruro de tionilo por parte del ácido, promoviendo la salida del cloro, mediante una reacción de adición-eliminación. Posteriormente, el cloruro generado como subproducto ataca al carbono carbonílico del anhídrido clorosulfínico, generando a su vez una especie más reactiva, como lo es el cloruro de acilo. Finalmente, este reacciona con el metanol para dar lugar a los derivados de aminoácidos deseados **(37a-37e)**.

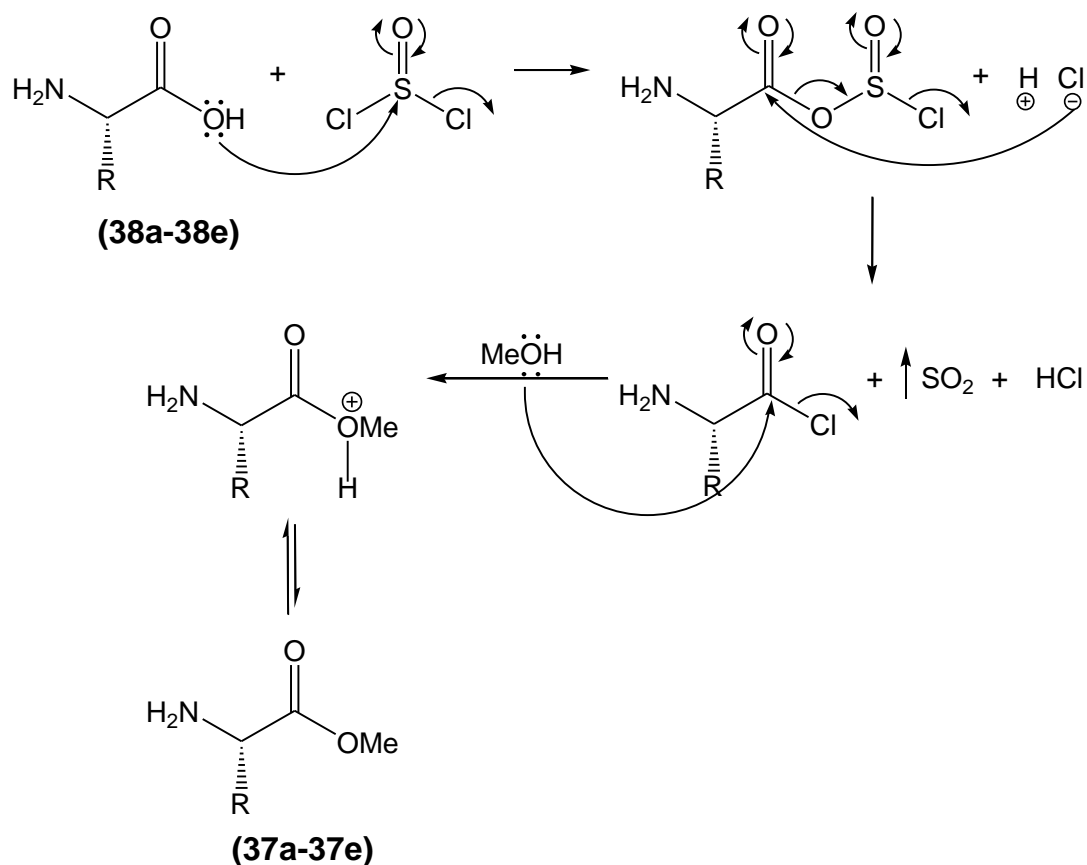


Figura 9: Mecanismo propuesto para la síntesis de los aminoácidos esterificados **(37a-37e)**.

Finalmente, se sintetizaron los derivados (**32a-32e**), condensando los diferentes aminoácidos esterificados (**37a-37e**) con el ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**36**), mediante la formación del enlace amida empleando EDCI y DMAP. El mecanismo propuesto para la obtención de los derivados (**32a-32e**) se muestra en la figura 10, en donde la carbodiimida activa al grupo carboxilo del ácido **36**, generando un intermediario O-acilisourea que reacciona con DMAP dando el acil-4-dimetilaminopiridinio, para finalmente, acoplarse con los aminoácidos (**37a-37e**), que conducen a la formación de los enlaces tipo amidas.

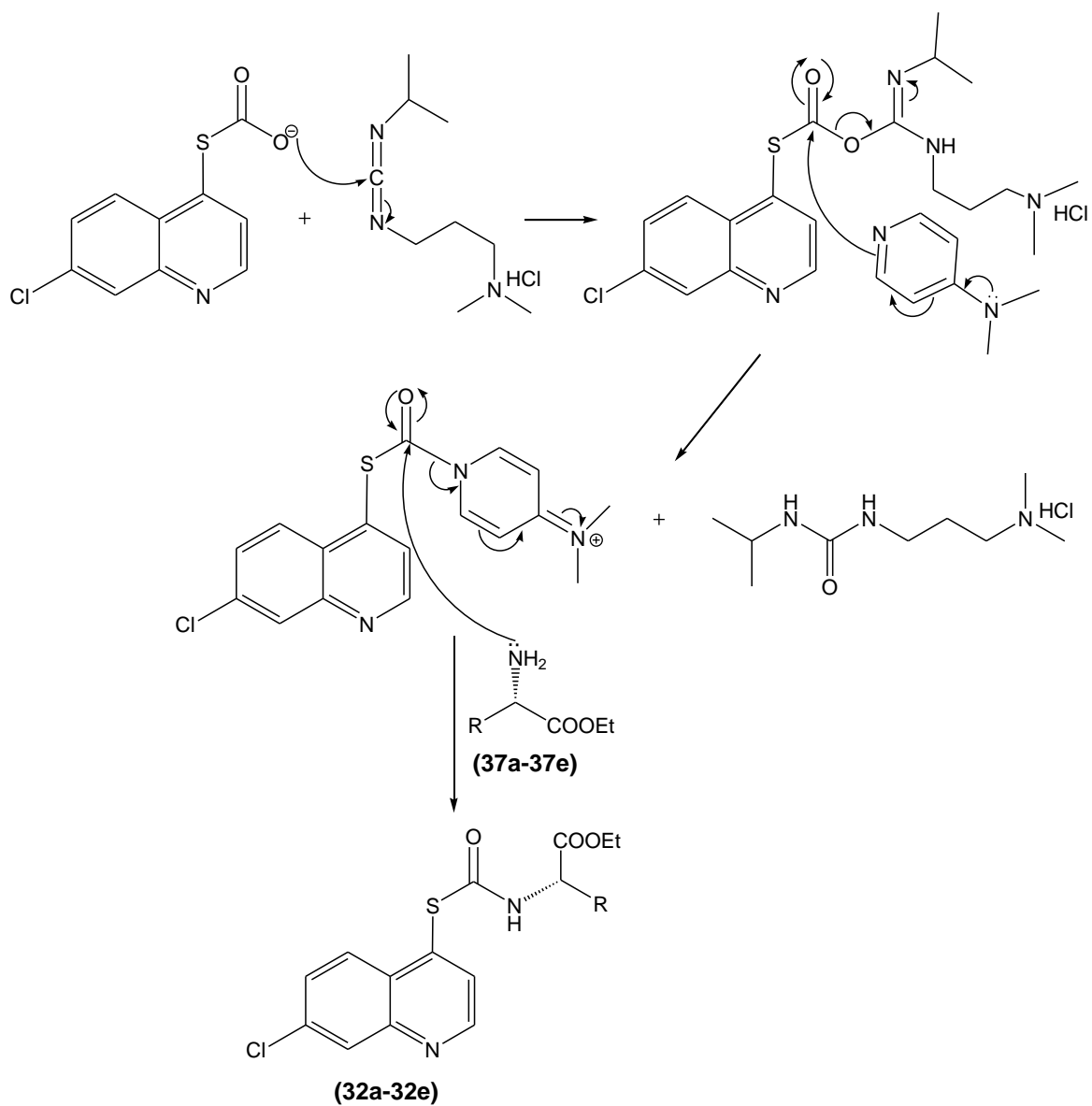


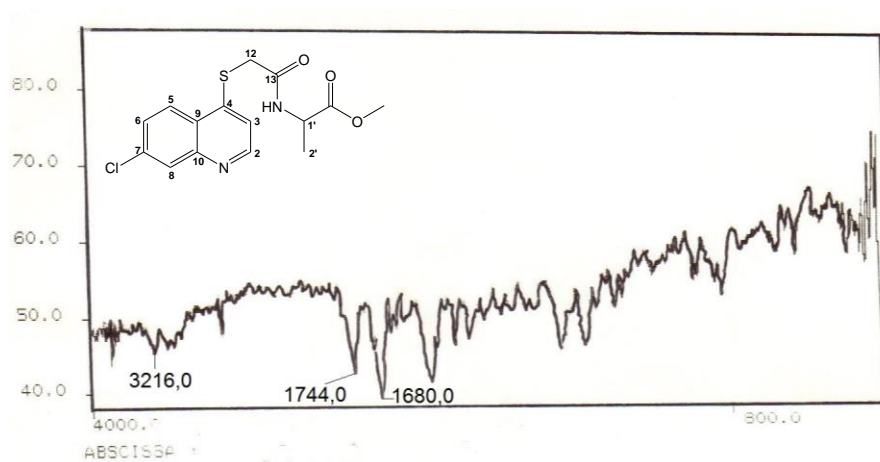
Figura 10: Mecanismo propuesto para la síntesis de los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (32a-32e).

Los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**) se obtuvieron como sólidos con rendimientos moderados de 5,4 a 41,8%, en donde el derivado con mejor rendimiento fue **32b** (tabla 1). Los derivados fueron caracterizados mediante técnicas de infrarrojo y resonancia magnética nuclear, de ^1H y de ^{13}C de una y dos dimensiones.

Tabla 1: Características de los derivados (**32a-32e**).

Derivado	Característica	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)
32a	Sólido amarillo pálido	5,4	138-140
32b	Sólido naranja	41,8	98-102
32c	Sólido naranja	22,3	116-118
32d	Sólido marrón	23,7	146-148
32e	Sólido beige	18,8	186-188

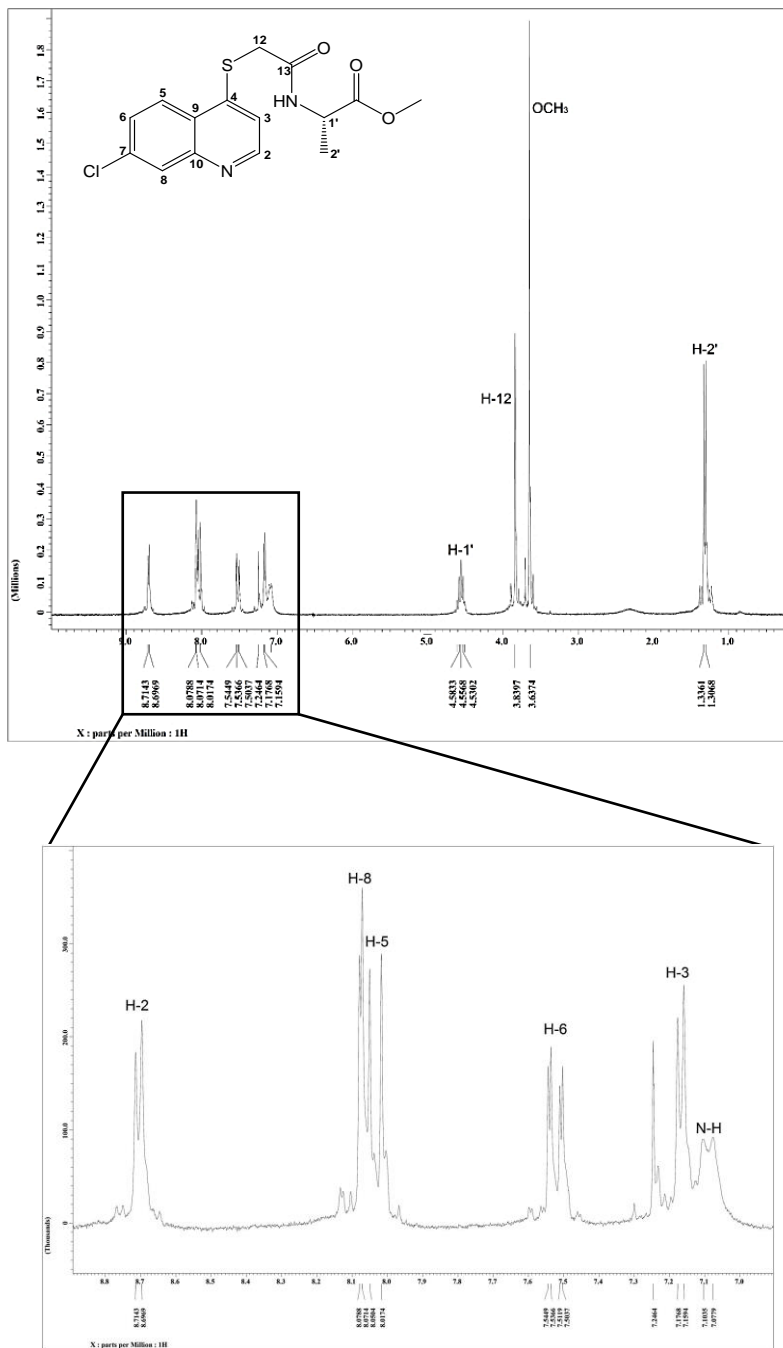
En los espectros de IR de los derivados (**32a-32e**) se observan las bandas características de la tensión del enlace C=O del grupo éster ($1728,0\text{-}1750,4\text{ cm}^{-1}$) y del grupo amida ($1632,0\text{-}1680,0\text{ cm}^{-1}$), presentes en cada estructura, al igual que la señal correspondiente a la tensión del enlace N-H de la amida ($3216,0\text{-}3312,0\text{ cm}^{-1}$). En el espectro 8 se puede apreciar el espectro de infrarrojo del compuesto **32a**.



Espectro 8: Espectro de IR del compuesto **32a**.

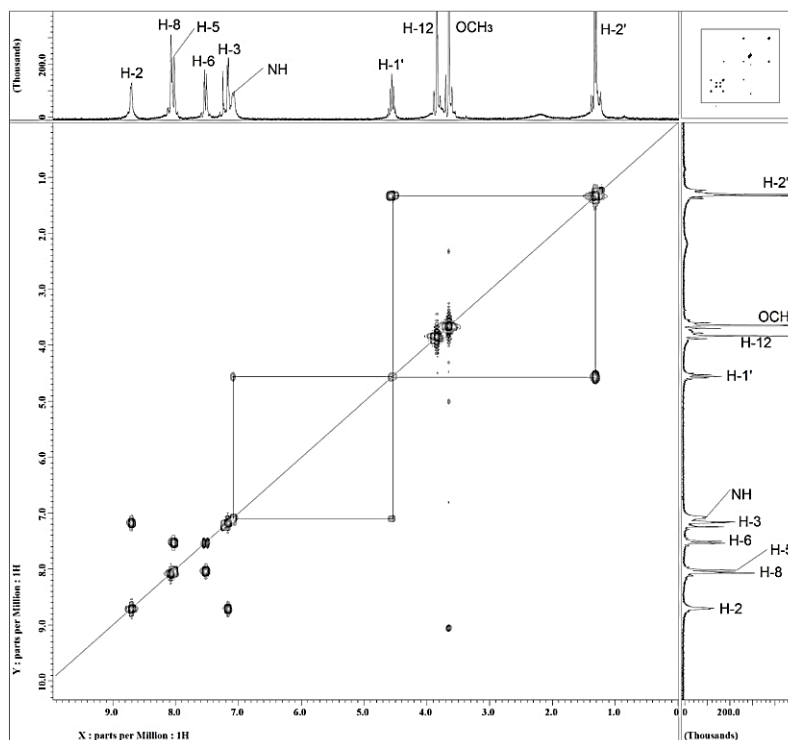
El derivado **32a**, presentó las siguientes señales en el espectro de RMN¹H (Espectro 9): un doblete centrado en 1,32 ppm que integra para tres protones, con una constante de acoplamiento de 7,91 Hz correspondiente a H-2'; un singlete en 3,64 ppm que integra para tres protones y pertenece a los protones del grupo metoxi (OCH₃); y un multiplete entre 4,53 ppm a 4,58 ppm perteneciente al H-1', señales que corresponden al núcleo del aminoácido correspondiente **37a**. Se observa también la señal del singlete en 3,84 ppm que integra para dos protones y fue asignada a los protones del grupo metilénico (H-12). A campo bajo se observa un doblete en 7,09 ppm con una constante de acoplamiento de 6,91 Hz, señal que integra para un protón que corresponde al protón de la amida (N-H). Con estas señales se puede corroborar la incorporación del aminoácido **37a** a la estructura inicial, **36**. Finalmente, se observan los protones correspondientes al anillo quinolínico, tales como: dos dobletes centrados en 7,17 y 8,71 ppm, con una constante de acoplamiento *orto* de 4,70 Hz, que integran para un protón, asignados a los protones H-3 y H-2, respectivamente; un doblete de doblete en 7,52 ppm con una constante de acoplamiento *orto* de 8,90 Hz y *meta* de 2,23 Hz, asignado al H-6. Así mismo, se observó un doblete en 8,03 ppm con una constante de

acoplamiento *orto* de 8,91 Hz, correspondiente al protón H-5 y por último, un doblete en 8,08 ppm con una constante de acoplamiento *meta* de 2,00 Hz asignada a H-8.



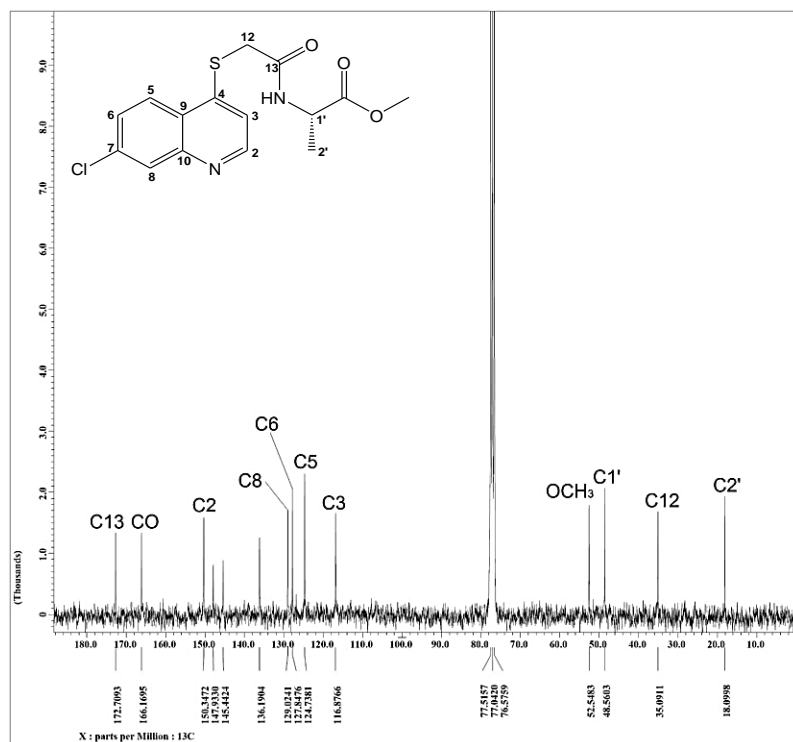
Espectro 9: Espectro de RMN¹H del derivado **32a** y su ampliación.

Con el análisis COSY (COrrrelation SpectroscopY) se pueden apreciar los acoplamientos protón-protón, con el cual se logró asignar de manera inequívoca la señal perteneciente a cada protón. En el espectro del análisis COSY del compuesto **32a** (Espectro 10) se observa el doblete asignable al protón del grupo amida (N-H) que se acopla con el multiplete ubicado entre 4,53-4,58 ppm, lo que confirma que esa señal se corresponde con el protón H-1', que a su vez, se acopla con el doblete en 1,32 ppm que se asignó a los protones metílicos H-2'. Empleando esta misma analogía se confirmaron los protones pertenecientes al anillo quinolínico.

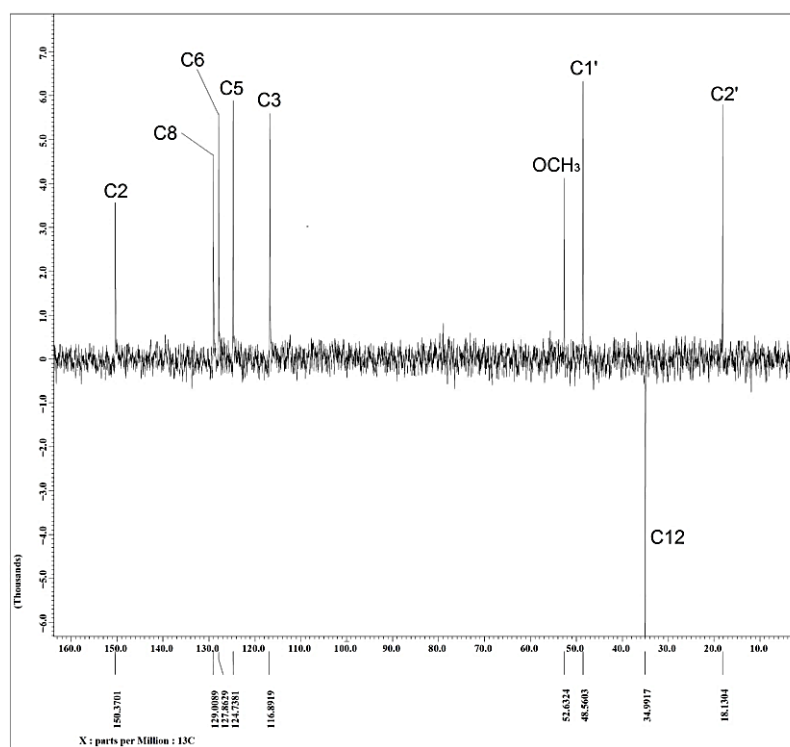


Espectro 10: Espectro de COSY del derivado **32a**.

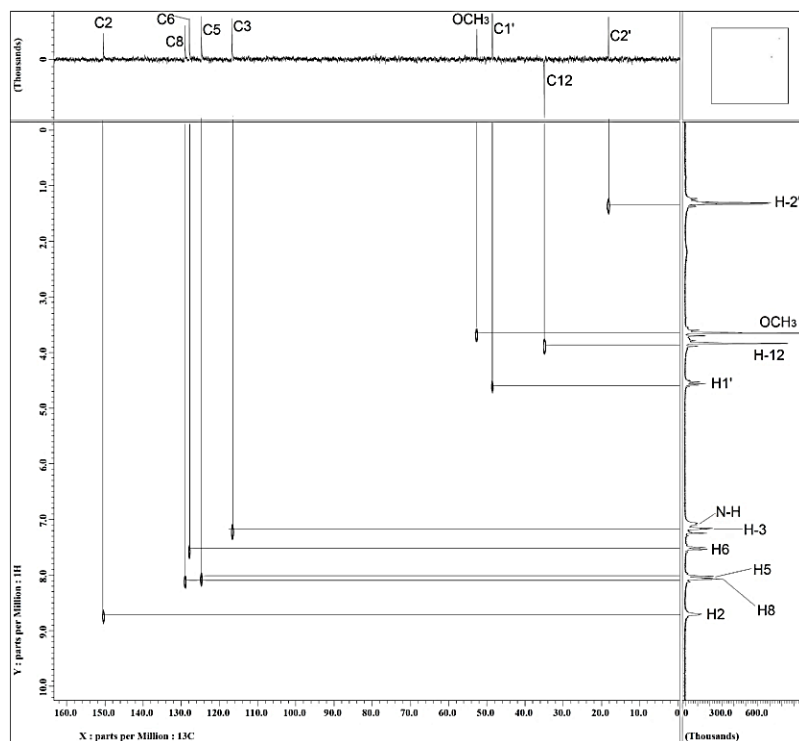
En el espectro de RMN¹³C del compuesto **32a** (Espectro 11), se observaron señales pertenecientes a los carbonos presentes en la estructura. La señal que se observa en 35,09 ppm se asignó al carbono metilénico (C12) debido al comportamiento que presenta en el espectro del análisis DEPT (Espectro 12). Las señales correspondientes a los carbonos cuaternarios de la estructura se observaron en 136,19; 145,44 y 147,93 ppm. A 18,10 y 48,56 ppm se observan señales que corresponden a los carbonos C2' y C1', respectivamente. Adicionalmente, se observan las señales del carbono del grupo metoxi en 52,55 ppm, la del carbono carbonílico del grupo amida (C13) en 172,71 ppm y la señal en 166,17 ppm asignada al carbono carbonílico (CO) del éster metílico. A campo bajo, se observan las señales correspondientes a los carbonos presentes en el sistema aromático, 116,88; 124,74; 127,85; 129,02 y 150,35 ppm asignables a los carbonos C3, C5, C6, C8 y C2, respectivamente. Estas señales se lograron asignar inequívocamente con ayuda del análisis HETCOR (Espectro 13).



Espectro 11: Espectro de RMN¹³C del derivado 32a.



Espectro 12: Espectro de DEPT del derivado **32a**.



Espectro 13: Espectro de HETCOR del derivado **32a**.

De la misma forma que fue caracterizado el derivado **32a** se caracterizaron los derivados (**32b-32e**). En los espectros de RMN^1H se mantienen las señales correspondientes a la estructura principal, con ligeras variaciones en los desplazamientos.

5.2. Sección biológica

La posible actividad antimalárica de los derivados sintetizados (**32a-32e**) se evaluó empleando el ensayo de la inhibición de la formación de hemozoína. Esta prueba establece mediante un porcentaje la capacidad que tienen determinados compuestos para interferir con la formación de la β -hematina, que a su vez forma la hemozoína; siendo la evaluación que se emplea mayormente ya que no requiere del material parasitario, es reproducible, sencilla y requiere pocas cantidades de compuesto. Como se ha mencionado, muchos medicamentos quinolónicos como la cloroquina (**4**), inhiben la formación de hemozoína por lo que se considera que los compuestos que la inhiban podrían ser potenciales antimaláricos.

Los resultados que se obtuvieron en la evaluación *in vitro* sobre el efecto de la inhibición de la formación de la hemozoína en los derivados (**32a-32e**) se muestra en la tabla 2. Se puede observar que los compuestos **32b** y **32e**, correspondientes a las condensaciones con los aminoácidos L-valina y L-triptófano, respectivamente, fueron los que alcanzaron más del 60% de inhibición de la formación de la hemozoína, siendo el del control positivo (cloroquina) de un 98,40%. Se puede inferir que ambos derivados pueden ser elegidos para someterse a una evaluación *in vivo*, debido al buen resultado que presentaron como inhibidores de la polimerización de hemina. Los derivados **32a** y **32d** presentaron una moderada actividad inhibidora, mientras que el derivado **32c** no presentó inhibición.

Tabla 2: %Inhibición de formación de hemozoina de los derivados **(32a-32e)**.

Compuesto	mM	%IFHz
Cloroquina	1	98,40
Cloroquina	0,5	97,16
Cloroquina	0,1	22,22
32a	1	15,38
32b	1	70,07
32c	1	0
32d	1	13,58
32e	1	61,08

Nº de réplicas: 3. **Control negativo:** H₂O y DMSO. **Condiciones:** pH: 4,4; T: 37°C; t: 48 h.

6. Conclusiones

- Se demostró la efectividad de la ruta sintética que se planteó para los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**).
- Se sintetizó y caracterizó el acetato 2-[4-(7-cloro-quinolinil)sulfanil] de metilo (**35**).
- Se sintetizó y caracterizó el ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**36**).
- Se sintetizaron los aminoácidos esterificados (**37a-37e**).
- Se sintetizaron las amidas derivadas del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**) con rendimientos de 5,4-41,8%.
- Se caracterizaron los derivados del ácido 4-(7-cloroquinolin)sulfanil acético (**32a-32e**) empleando técnicas de IR, RMN¹H y RMN¹³C.
- Los derivados (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-metilbutanoato de metilo (**32b**) y (S)-2-[2-(7-cloroquinolin-4-iltio)acetamido]-3-(1*H*-indol-3-il)propanoato de metilo (**32e**), presentaron una buena actividad antimalárica al inhibir la formación de β -hematina en la prueba *in vitro*.

7. Recomendaciones

- Someter a los derivados **32b** y **32e** a una evaluación *in vivo*, debido al buen resultado que presentaron como inhibidores de la formación de β -hematina.
- Evaluar sobre cepas de *Plasmodium* sensibles y resistentes, los derivados **32b** y **32e**.
- Realizar las reacciones de acoplamiento para la síntesis de los derivados **32a** y **32e**, empleando otro agente activante, con el fin de obtener mejores rendimientos.

8. Bibliografía

1. Lemke, T., Williams, D., Roche, V. y Zito, S. FOYE'S Principles of Medicinal Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Klumer business. 2008, 1087-1088.
2. Antinori, S., Galimberti, L., Milazzo, L. y Corbellino, M. Biology of Human Malaria Plasmodia Including *Plasmodium Knowlesi*. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2012, 4, doi: 10.4084/MJHID.2012.013.
3. <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241509442/en/>. Revisado el 14/03/2016.
4. http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/wmr2015-keypoints_sp.pdf. Revisado el 14/03/2016.
5. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Boletín epidemiológico. Semana epidemiológica N°26. Año de edición LIX. 2015, 7, 22-24.
6. <http://www.unal.edu.co/ins-libbiqUN/imagenes/web/Pfalciparum1.jpg>. Revisado el 28/03/2016.
7. Loria, P., Miller, S., Foley, M y 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.
8. Choi, C., Cerda, J., Chu, H., Babcock, G. y Marletta, M. Spectroscopic Characterization of the Heme-Binding Sites in *Plasmodium falciparum* Histidine-Rich Protein 2. *Biochemistry.* 1999, 38, 16916-16924.
9. Pandey, A., Bisht, H., Babbarwal, V., Srivastana, J., Pandey, K. y Chauhan, V. Mechanism of malarial haem detoxification inhibition by chloroquine. *Biochem. J.* 2001, 355, 333-338.
10. Egan, T. Haemozoin Formation as a Target for the Rational Design of New Antimalarials. *Drug Des. Rev.* 2004, 1, 93-110.
11. Pagola, S., Stephens, P., Bohle, D., Kosar, A. y Madsen, S. The structure of malaria pigment β -haematin. *Nature.* 2000, 404, 307-310.

12. Slater, A., Swiggard, W., Orton, B., Flitter, W., Goldberg, D., Cerami, A. y Henderson, G. An iron-carboxylate bond links the heme units of malaria pigment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991, 88, 325-329.
13. Fitch, C. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids, and the antimalarial actions of quinole drugs. *Life Sci*. 2004, 74, 1957-1972.
14. Sullivan, D., Gluzman, I. y Goldberg, D. Plasmodium Hemozoin Formation Mediated by Histidine-Rich Proteins. *Science*. 1996, 271, 219-222.
15. Dorn, A., Vippagunta, S., Matile, H., Bubendorf, A., Vennerstrom, J. y Ridley, R. A Comparison and Analysis of Several Ways to Promote Haematin (Haem) Polymerisation and an Assessment of Its Initiation *In Vitro*. *Biochem. Pharmacol*. 1998, 55, 737-747.
16. Egan, T., Mavuso, W. y Ncokazi, K. The Mechanism of β -Hematin Formation in Acetate Solution. Parallels between Hemozoin Formation and Biomineralization Processes. *Biochemistry*. 2001, 40, 204-213.
17. Djimdé, A., Doumbo, O., Cortese, J., Kayentao, K., Doumbo, S., Diourté, Y., Dicko, A., Su, X., Nomura, T., Fidock, D., Wellems, T. y Plowe, C. A molecular marker for chloroquine-resistant falciparum malaria. *N. Engl. J. Med*. 2001, 344, 257-263.
18. Egan, T., Ross, D. y Adams, P. Quinoline anti-malarial drugs inhibit spontaneous formation of β -haematin (malaria pigment). *FEBS Letters*. 1994, 352, 54-57.
19. Alilio, M., Bygbjerg, I. y Breman, J. Are multilateral malaria research and control programs the most successful? Lessons from the past 100 years in Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2004, 71, 268-278.
20. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/es/>. Revisado el 14/03/2016.
21. Valero, M., Amador, R., Aponte, J., Narvaez, A., Galindo, C., Silva, Y., Rosas, J., Guzman, F. y Patarroyo, M. Evaluation of SPf66 malaria vaccine during a 22-month follow-up field trial in the Pacific coast of Colombia. *Vaccine*. 1996, 14, 1466-1470.
22. Seder, R., Chang, L., Enama, M., Zephir, K., Sarwar, U., Gordon, I., Holman, L., James, E., Billingsley, P., Gunasekera, A., Richman, A., Chakravarty, S., Manoj, A., Velmurugan, S., Li, M., Ruben, A., Li, T., Eappen, A., Stafford, R., Plummer, S., Hendel,

- C., Novik, L., Costner, P., Mendoza, F., Saunders, J., Nason, M., Richardson, J., Murphy, J., Davidson, S., Richie, T., Sedegah, M., Sutamihardja, A., Fahle, G., Lyke, K., Laurens, M., Roederer, M., Tewari, K., Epstein, J., Lee, B., Ledgerwood, J., Graham, B. y Hoffman, S. Protection Against Malaria by Intravenous Immunization with a Nonreplicating Sporozoite Vaccine. *Science*. 2013, 341, 1359-1365.
- 23.** Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J., Moro, M. y Portolés, A. Farmacología Básica y Clínica. Editorial Médica Panamericana. 2008, 893-903.
- 24.** Foye, W. Principios de Química Farmacéutica. Barcelona. Editorial Reverté. 1987, 789-790.
- 25.** Thurston, J. Morphological changes in *Plasmodium berghei* following proguanil, sulphadiazine and mepacrine therapy. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1951, 44, 703-706.
- 26.** Yeo, A., Edstein, M., Shanks, G. y Rieckmann, K. A statistical analysis of the antimalarial activity of proguanil and cycloguanil in human volunteers. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1994, 88, 587-594.
- 27.** Bryson, M. y Goa, K. Halofantrine: A Review of its Antimalarial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Potential. *Drugs*. 1992, 43, 236–258.
- 28.** Triglia, T., Menting, J., Wilson, C. y Cowman, A. Mutations in dihydropteroate synthase are responsible for sulfone and sulfonamide resistance in *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997, 94, 13944-13949.
- 29.** http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44482/1/9789241500838_eng.pdf?ua=1. Revisado el 15/08/2016.
- 30.** http://www.paho.org/per/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=290&Itemid=. Revisado el 12/08/2016.
- 31.** González, D. Nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de la malaria. *Enferm. Emerg.* 2005, 7, 40-43.
- 32.** Triglia, T. y Cowman, A. The mechanism of resistance to sulfa drugs in *Plasmodium falciparum*. *Drug Resist. Updat.* 1999, 2, 15-19.

33. Olliaro, P. Mode of action and mechanism of resistance for antimalarial drugs. *Pharmacol. Ther.* 2001, 89, 207-219.
34. Bustamante, L. y Giraldo, L. Cloroquina: hipótesis acerca de los mecanismos de resistencia en *Plasmodium falciparum*. *Revista Biomédica*. 1999, 19, 18-24.
35. Hastings, I. y Watkins, W. Tolerance is the key to understanding antimalarial drugs resistance. *Trends in Parasitol.* 2006, 22, 71-77.
36. Hastings, I. The origins of antimalarial drug Resistance. *Trends in Parasitol.* 2004, 20, 512-518.
37. Neftel, K., Woodtly, W., Schmid, M., Frick, P. y Fehr, J. Amodiaquine induced agranulocytosis and liver damage. *British Med. J.* 1986, 292, 721-723.
38. Lind, D., Levi, J. y Vincent, P. Amodiaquine-induced Agranulocytosis: Toxic Effect of Amodiaquine in Bone Marrow Cultures in Vitro. *British Med. J.* 1973, 1, 458-460.
39. O'Neill, P., Mukhtar, A., Stocks, P., Randle, L., Hindley, S., Ward, S., Storr, R., Bickley, J., O'Neil, I., Maggs, J., Hughes, R., Winstanley, P., Bray, P., y Park, B. Isoquine and Related Amodiaquine Analogues: A New Generation of Improved 4-Aminoquinoline Antimalarials. *J. Med. Chem.* 2003, 46, 4933-4945.
40. Yeung, S., Pongtavornpinyo, W., Hastings, I., Mills, A. y White, N. Antimalarial drugs resistance, artemisinin-based combination therapy, and the contribution of modeling to elucidating policy choices. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004, 71, 179-186.
41. Kremsner, P. y Krishna, S. Antimalarial combinations. *Lancet.* 2004, 364, 285-294.
42. Madrid, P., Sherrill, J., Liou, A., Weisman, J., DeRisi, J. y Guy, R. Synthesis of ring-substituted 4-aminoquinolines and evaluation of their antimalarial activities. *Bioorg. Med. Chem. Letters.* 2005, 15, 1015-1018.
43. Rodrigues, J., Ferrer, R., Gamboa, N., Charris, J. y Antunes, F. Potential antitumour and pro-oxidative effects of (E)-methyl-2-(7-chloroquinolin-4-ylthio)-3-(4-hydroxyphenyl) acrylate (QNACR). *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* 2013, 28, 1300-1306.
44. Salgueiro, W., Xavier, M., Duarte, L., Câmara, D., Fagundez, D., Soares, A., Perin, G., Alves, D. y Avila, D. Direct synthesis of 4-organylsulfenyl-7-chloro quinolines and

their toxicological and pharmacological activities in *Caenorhabditis elegans*. *Eur. J. Med. Chem.* 2014, 75, 448-459.

45. Sinha, M., Dola, V., Agarwal, P., Srivastava, K., Haq, W., Puri, S. y Katti, S. Antiplasmodial activity of new 4-aminoquinoline derivatives against chloroquine resistant strain. *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22, 3573-3586.

46. Delhaes, L., Biot, C., Berry, L., Delcourt, P., Maciejewski, L., Camus, D., Brocard, J. y Dive, D. Synthesis of Ferroquine Enantiomers: First Investigation of Effects of Metallocenic Chirality upon Antimalarial Activity and Cytotoxicity. *Chem. Bio. Chem.* 2002, 3, 418-423.

47. Ma, C., Cao, R., Shi, B., Li, S., Chen, Z., Yi, W., Peng, W., Ren, Z. y Song, H. Synthesis and cytotoxic evaluation of *N*²-benzylated quaternary β -carboline amino acides terconjugates. *Eur. J. Med. Chem.* 2010, 45, 1515-1523.

48. Kolano, K., Gomann, K. y Sander, W. Small Cyclic Disulfide Peptides: Synthesis in Preparative Amounts and Characterization by Means of NMR and FT-IR Spectroscopy. *Eur. J. Org. Chem.* 2004, 20, 4167-4176.

49. Ding, K., Chen, J., Ji, M., Wu, X., Varady, J., Yang, C., Lu, Y., Deschamps, J., Levant, B. y Wang, S. Enantiomerically Pure Hexahydropyrazinoquinolines as Potent and Selective Dopamine 3 Subtype Receptor Ligands. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 3171-3181.

50. Baelmans, R., Deharo, E., Muñoz, V., Sauvain, M. y Ginsburg, H. Experimental Conditions for Testing the Inhibitory Activity of Chloroquine on the Formation of β -Hematin. *Exp. Parasitol.* 2000, 96, 243-248.