

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE LA POSIBLE ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA
DE UNA SERIE DE DERIVADOS DE 2-ACIL-3,3a,4,5-TETRAHIDRO-2H-
BENZO[g]-INDAZOLES”**

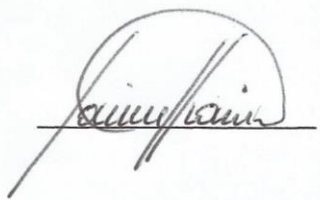
*Trabajo Especial de Grado presentado ante la
ilustre Universidad Central de Venezuela, por
el Br. Daniel Aparicio Cruz, para optar al título
de Licenciado en Química.*

Caracas, Octubre de 2016

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como Integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado:

“SINTESIS Y EVALUACION DE LA POSIBLE ACTIVIDAD ANTIMALARICA DE UNA SERIE DE DERIVADOS DE 2-ACIL-3,3a,4,5-TETRAHIDRO-2H-BENZO[g]-INDAZOLES”

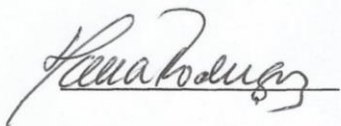
Que presenta el Br. Daniel Armando Aparicio Cruz, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.



Dr. Jaime Charris (Director)



MSc. Lola De Lima (Directora)



Dra. María Rodríguez (Jurado)



Dra. Katuska Chávez (Jurado)

A la memoria de mi querida madre que estará en mi corazón por el resto de mis días. Que dios la tenga en su gloria.

AGRADECIMIENTOS

- *A mi tutor Jaime Charris por haberme dado la oportunidad de pertenecer a su grupo de investigación, por su paciencia, recomendaciones y por todos los conocimientos enseñados.*
- *A la profesora Lola de lima por su colaboración en la realización de los espectros IR y por toda su paciencia y confianza en mí.*
- *A la profesora Gricela Lobo por ser además de una gran amiga, una gran maestra en todo momento.*
- *A la Dra. Jennifer Sánchez, por su gran ayuda y compañerismo dentro del laboratorio en todo momento.*
- *A toda mi familia que siempre me ha apoyado durante toda mi carrera.*
- *A mi amiga Betza y a toda su familia por su apoyo incondicional siempre, gracias infinitas.*
- *A mi querida Universidad Central de Venezuela por permitirme estar bajo su techo.*

INDICE GENERAL

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1. <i>Malaria o paludismo</i>	4
2.2. <i>Agente etiológico de la malaria</i>	5
2.2.1. Ciclo biológico del Plasmodium.....	6
2.2.2. Bioquímica del Plasmodium	7
2.3. <i>Antimaláricos de uso clínico</i>	9
2.3.1. Quinina y quinidina	9
2.3.2. 4-Aminoquinolinas	10
2.3.3. 8-Aminoquinolinas	12
2.3.4. Artemisina y análogos	13
2.3.5. Pirimetamina	14
2.3.6. Sulfonamidas.....	15
2.4. <i>Resistencia a antimaláricos</i>	16
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. Antecedentes	17
3.2. <i>Justificación</i>	26
4. OBJETIVOS	28
4.1. <i>Objetivo general</i>	28
4.2. <i>Objetivos específicos</i>	28
5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	29

5.1.	Consideraciones generales.....	29
5.1.	<i>Procedimiento general para la síntesis de los intermediarios de (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona 40a-40e.</i>	32
5.1.1.	Síntesis de 2-(3,4-Dimetoxi-benciliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (40a).....	33
5.1.2.	Síntesis de 2-(3,4,5-Trimetoxi-benciliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (40b).....	34
5.1.3.	Síntesis de 2-(3,4-Dimetoxi-benciliden)-7-metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (40c).	35
5.1.4.	Síntesis de 7-Metoxi-2-(3,4,5-trimetoxi-benciliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (40d). ...	36
5.1.5.	Síntesis de 6-Metoxi-2-(3,4,5-trimetoxi-benciliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (40e).	37
5.1.	<i>Procedimiento general para la síntesis de derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazoles (41a-41e).</i>	38
5.1.1.	Síntesis de trans-1-[3-(3,4-Dimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona, (41a).....	40
5.1.2.	Síntesis de cis-1-[3-(3,4-Dimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona, (41a).....	41
5.1.3.	Síntesis de trans-1-[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona (41b).....	42
5.1.4.	Síntesis de cis-1-[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona (41b).....	43
5.1.5.	Síntesis de trans-1-[3-(3,4-Dimetoxifenil)-8-metoxi-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (41c).....	44
5.1.6.	Síntesis de cis-1-[3-(3,4-Dimetoxifenil)-8-metoxi-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (41c).....	45
5.1.7.	Síntesis de trans-1-[8-Metoxi-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (41d).	46
5.1.8.	Síntesis de cis-1-[8-Metoxi-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-yl]-etanona (41d).....	47
5.1.9.	Síntesis de trans-1-[7-Metoxi-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (41e).	48
5.1.10.	Síntesis de cis-1-[7-Metoxi-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (41e).....	49
5.2.	<i>Procedimiento general para la evaluación de la potencial actividad antimalárica in vitro.</i>	50
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51

6.1. Sección química	51
6.1.1. Síntesis de los intermediarios de (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (40a-40e).....	52
6.1.2. síntesis de derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazoles (41a-41e).....	60
6.2. Sección Biológica	78
6.2.1. Actividad Antimalárica	78
7. CONCLUSIONES.....	80
8. RECOMENDACIONES	82
9. BIBLIOGRAFÍA.....	83

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

α : Alfa

β : Beta

C: Carbono

CDCl₃: Cloroformo deuterado

°C: Grado Centígrado

C₁₅₀: Concentración inhibitoria 50

Cl: Cloro

COSY: Correlación espectroscópica

CQ: Cloroquina

cm⁻¹: Centímetros recíprocos

δ : Desplazamiento químico

d: Doblete

dd: Doblete de doblete

dept: Mejora sin distorsión por transferencia de polarización

F: Flúor

g: Gramos

h: Horas

H: Hidrógeno

HETCOR: Correlación heteronuclear

Hz: Hertz

IF β H: Inhibición de la formación de β -hematina

IR: Infrarrojo

J: Constante de acoplamiento

KBr: Bromuro de potasio

Kg: Kilogramo

m: Multiplete

μ g: Microgramo

mg: Miligramo

μ M: Micromolar

min: Minutos

mL: Mililitros

mm: Milímetro

N: Nitrógeno

nm: Nanómetro

O: Oxígeno

OMS: Organización Mundial de la Salud

P.: *Plasmodium*

pf: Punto de fusión

Ph: Fenilo

ppm: Partes por millón

RMN¹H: Resonancia Magnética Nuclear de protones

RMN¹³C: Resonancia Magnética Nuclear de carbonos

s: Singlete

t: Triplete

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial de la malaria en el 2014. ¹	3
Figura 2. Especies de <i>Plasmodium</i> que infectan al hombre. ²	5
Figura 3. Ciclo biológico del <i>Plasmodium</i> . ³	7
Figura 4. Estructura química de: I) Hematina, II) β -Hematina, III) Hemozoína. ⁴	8
Figura 5. Estructuras química de la Quinina y la Quinidina. ⁵	10
Figura 6. Estructuras Químicas de algunas 4-aminoquinolinas. ⁶	12
Figura 7. Estructuras químicas de algunas 8-aminoquinolinas. ⁷	13
Figura 8. Estructura química de la Artemisinina y algunos de sus análogos. ⁸	14
Figura 9. Estructura química de la pirimetamina. ⁹	15
Figura 10. Estructura química de sulfadiazina y sulfadoxina. ¹⁰	15
Figura 11. Esquema de síntesis de 2-Sustituido-3-aril-3,3a,4,5-tetrahidro-2H- benzo[g]indazoles. ¹¹	25
Figura 12. Mecanismo de condensación Claisen-Schmidt	53
Figura 13. Estructura general y numeración de compuesto 40e	54
Figura 14. Mecanismo para la síntesis de 41a-41e	61

Figura 15. Mecanismo de isomerización de los compuestos 41a-41e	62
Figura 16. Estructura química del compuesto 41e	64

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema de síntesis de los derivados de de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2 <i>H</i> -benzo[g]-indazoles 41a-41e	31
Esquema 2. Esquema de síntesis de los intermediarios derivados de (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(2 <i>H</i>)-ona (40a-40e).....	32
Esquema 3. Síntesis de los derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2 <i>H</i> -benzo[g]-indazoles (41a-41e).....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mezcla de solventes empleados para la separación por cromatografía en columna de las mezclas diastereoisoméricas 41a-41e	39
Tabla 2. Porcentajes de rendimiento y características físicas de los compuestos 40a-40e	54
Tabla 3. Porcentajes de rendimiento de la mezcla de compuestos 41a-41e	63
Tabla 4. Rendimiento y propiedades físicas de los compuestos cis-trans 41a-41e	66
Tabla 5. Porcentajes de inhibición de polimerización de hemina <i>in vitro</i>	79

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro IR de compuesto 40e	55
Espectro 2. Espectro RMN ¹ H de 40e y su ampliación	57
Espectro 3. Espectro RMN ¹³ C de 40e y su ampliación	59
Espectro 4. Espectro RMN ¹ H de la mezcla 41e y su ampliación.	65
Espectro 5. Espectro IR del compuesto cis-41e	67
Espectro 6. Espectro RMN ¹ H del compuesto cis-41e y su ampliación.....	69
Espectro 7. Espectro COSY del compuesto 41e	70
Espectro 8. Espectro RMN ¹³ C del compuesto cis-41e	71
Espectro 9. Espectro DEPT y HETCOR del compuesto cis-41e	72
Espectro 10. Espectro RMN ¹ H del compuesto trans 41e y su ampliación.	74
Espectro 11. Espectro RMN ¹³ C de trans-41e y su ampliación	76
Espectro 12. Espectro HETCOR del compuesto trans-41e	77

1. RESUMEN

En el siguiente trabajo de investigación se realizó la síntesis de una serie de derivados 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazoles (**41a-41e**) y la evaluación *in vitro* de la potencial actividad antimalárica de los mismos.

El proceso sintético abarcó dos pasos lineales, el primero involucró la formación de los intermediarios (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(H)-ona (**40a-40e**) a través de una reacción de condensación de Claisen-Schmidt de una serie de α -tetralonas con benzaldehídos di y trimetoxi sustituidos, obteniéndose rendimientos superiores al 90% en todos los casos.

Posteriormente, se realizó la síntesis de los derivados **41a-41e** a través de una ciclo condensación de los intermediario **40a-40e** con hidrazina mono hidratada y ácido acético. Todos los compuestos sintetizados fueron obtenidos como una mezcla diastereoisomérica (*cis* + *trans*), que fue separada por cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria (kieselgel 60, 0.063-0.200mm), y como fase móvil una mezcla de solventes (Hexano-Cloroformo-Isopropanol), en diferentes proporciones.

Todos los compuestos fueron caracterizados por métodos espectroscópicos como IR, RMN¹H, espectroscopía de correlación del desplazamiento homonuclear protón-protón (COSY), RMN¹³C y espectroscopía de correlación heteronuclear protón-carbono (HETCOR).

Los porcentajes de rendimientos expresan el producto ***trans-41a-41e***, sobre el ***cis*** como mayoritario con un rendimientos mayores al 29% en todos los casos.

La evaluación de la posible actividad antimalárica se realizó de acuerdo a protocolos reportados *in vitro* mediante el ensayo de inhibición de la formación de

β -hematina (IF β H), obteniéndose que solo el compuesto ***trans-41d*** presentó inhibición de la formación de β -hematina con un porcentaje de inhibición de 32,13 %.

Palabras claves: Malaria, antimalárico, pirazolinas, chalconas.

2. INTRODUCCIÓN

Muchas enfermedades azotan diariamente a millones de personas alrededor del mundo causando daños físicos e incluso la muerte en mucho de los casos. Por esta razón miles de científicos han estado en la búsqueda intensa de diferentes soluciones para atacar esta grave problemática mundial.¹

La malaria en particular es una enfermedad infecciosa transmitida por mosquitos del género *Anopheles* que afectó a más de 214 millones de personas sólo en el año 2015; La mayoría de ellos en el África Subsahariana, donde la malaria es la principal causa de muerte entre los niños menores de cinco años. Hoy en día la enfermedad afecta a 97 países y territorios en todo el mundo entre los cuales está incluido Venezuela²

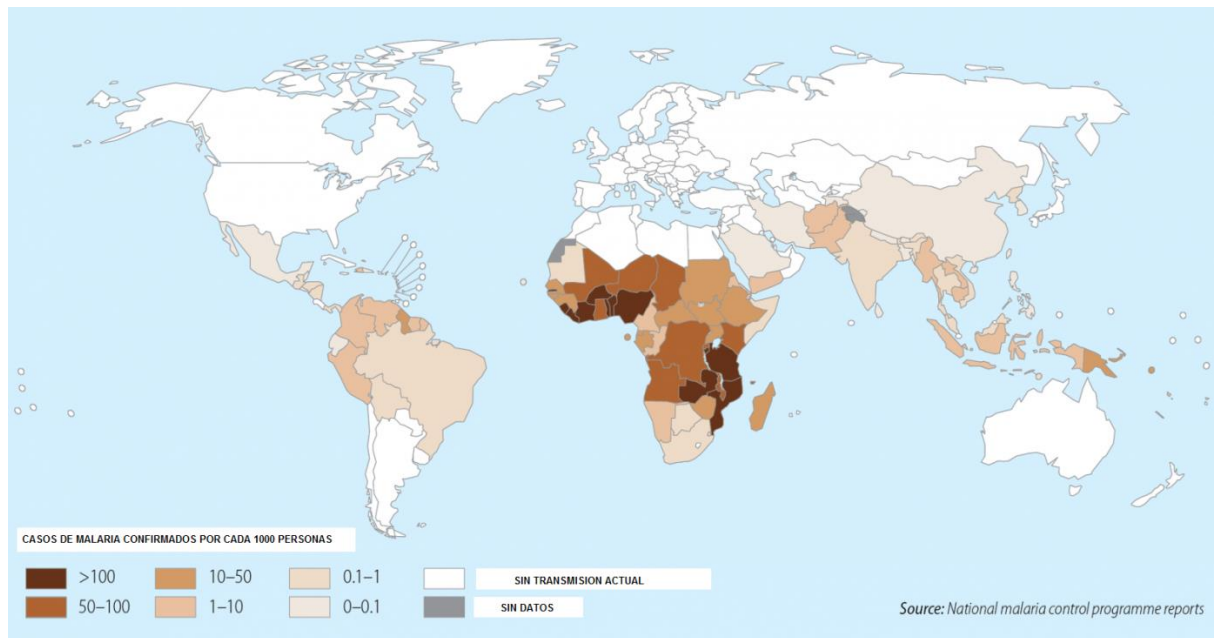


Figura 1. Distribución mundial de la malaria en el 2014.¹

Debido a que la malaria es una emergencia mundial que afecta en su mayoría a mujeres embarazadas y niños, se presenta este proyecto de investigación como aporte a la búsqueda de fármacos provenientes de compuestos orgánicos, que aporten nuevos elementos científicos al estudio de la Química Medicinal en la solución a esta grave problemática.

2.1. Malaria o paludismo

La malaria es una de las infecciones parasitarias de mayor prevalencia y sigue siendo una de las enfermedades parasitarias más importantes del mundo en desarrollo. A pesar de los avances sustanciales en el tratamiento y la prevención en la última década, la malaria sigue amenazando las vidas de millones de personas en los países tropicales. El riesgo de muerte por malaria es considerablemente mayor en África que en otras partes del mundo.³

La malaria es una enfermedad transmitida al ser humano por un mosquito y ocasionada por cualquiera de los diversos parásitos, del género *Plasmodium*. El mosquito *Anopheles* transmite la enfermedad a las personas a través de su picadura. En 2015 la región del África subsahariana reportó el 89% de los casos de malaria y el 91% de las muertes por esta causa.⁴

Los síntomas de la malaria incluyen fiebre, escalofríos, sudoración y dolor de cabeza. En ciertos casos, puede producir ictericia, defectos de la coagulación sanguínea, shock, insuficiencia renal o hepática y trastornos del sistema nervioso central.⁴

2.2. Agente etiológico de la malaria

La malaria es una enfermedad causada por cinco especies del protozoo unicelular del género *Plasmodium*.⁵

Existen más de 150 especies de *Plasmodium* (*P*) que infectan diferentes vertebrados, pero solo cinco (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi*) infectan al hombre.^{6,7}

Ellos difieren en la distribución geográfica, apariencia microscópica, rasgos clínicos (periodicidad de infección, severidad de la enfermedad, habilidad para causar recaídas, entre otras), y potencial para desarrollar resistencia hacia los fármacos antimaláricos.⁵

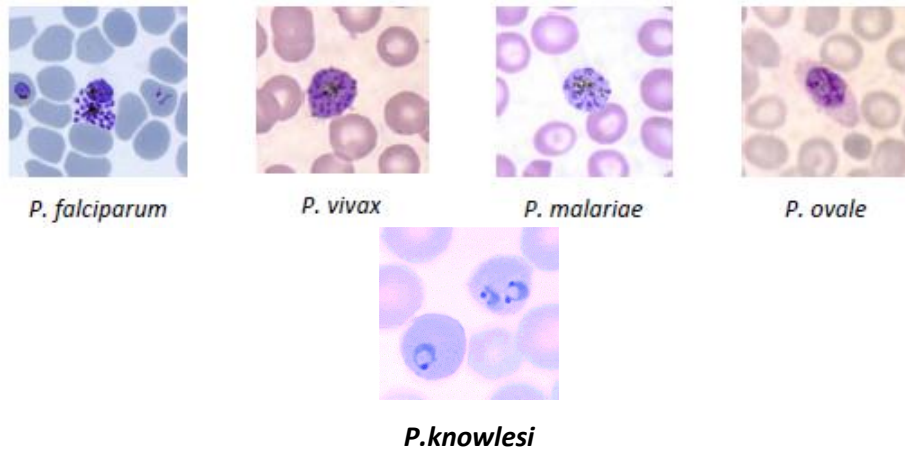


Figura 2. Especies de *Plasmodium* que infectan al hombre.⁵⁻⁸

El *P. falciparum*, es la especie que causa aproximadamente el 50% de toda la malaria en el mundo, también es la que causa el tipo de malaria más letal, ya que infecta hasta 65% de los eritrocitos del paciente afectado. El *P. vivax*, es la segunda especie más común causando alrededor del 40% del total de los casos de malaria. Puede ser crónica, ya que infecta las células del hígado que pueden causar recaídas en el paciente. El *P. malariae* y *P. ovale*, son los que ocasionan menos casos de malaria y tienen un mecanismo de acción similar al *P. vivax*. El *P. knowlesi*, presenta un mecanismo de acción similar al *P. vivax*. El primer caso reportado de malaria en humanos causada por el *P. knowlesi* fue en 1965 y hoy día es responsable de hasta el 70% de los casos de malaria en algunas zonas del Sudeste Asiático.⁵⁻⁷

En general este protozoo, vive solo en mosquitos hembras de diferentes especies del género *Anopheles*, que son los responsables de la transmisión de esta enfermedad a los humanos.⁷

2.2.1. Ciclo biológico del *Plasmodium*

El mosquito hembra infectado, portador de esporozoítos del *Plasmodium* en sus glándulas salivales, si pica a un individuo sano, le transmitirá los esporozoítos, que migran al hígado por el torrente sanguíneo, donde maduran a estadios conocidos como esquizontes, los cuales después de múltiples replicaciones producen alrededor de 20.000 merozoítos aproximadamente, en tan solo 5 días. Los merozoítos al ser liberados al torrente sanguíneo invaden los eritrocitos con lo que se da inicio al ciclo celular intraeritrocítico. Los merozoítos se diferencian a anillo y luego a trofozoíto, en este estadio incrementan su tamaño, tasa metabólica, síntesis de proteínas e inician la replicación del genoma. Por múltiples divisiones nucleares los trofozoítos se transforman en esquizontes, en los que se inicia la síntesis de organelos para cada una de las células hijas. Luego de 48 horas por cada eritrocito infectado se liberan entre 16

a 32 nuevos parásitos que al ser liberados al torrente sanguíneo infectan nuevos eritrocitos. El ciclo sexual o esporogónico es promovido cuando un pequeño porcentaje de parásitos circulantes se diferencian en células sexuales que son transmitidas al mosquito cuando se alimenta con sangre infectada.^{8,9}

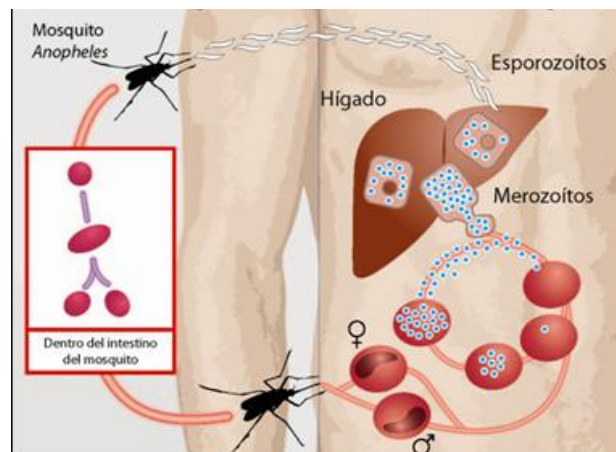


Figura 3 Ciclo biológico del *Plasmodium*.¹⁰

2.2.2. Bioquímica del *Plasmodium*

Una vez el parásito entra al torrente sanguíneo, se alimenta de la hemoglobina del hospedador, a fin de obtener los aminoácidos necesarios para sintetizar sus propias proteínas. Sin embargo, el hemo libre obtenido de la degradación de la hemoglobina, también conocido como hematina o hidroxiferriprotoporfirina IX (Figura 4I), es muy tóxico al parásito debido a que puede generar especies reactivas de oxígeno como H_2O_2 , radicales superóxido y radicales hidroxilo que son mediadores directos de ciertos procesos bioquímicos que ocasionan la ruptura celular y en última instancia la muerte del parásito. Para superar la toxicidad del hemo libre, el parásito *Plasmodium*, se ha equipado con sistemas de desintoxicación de hemo. Dichos sistemas se pueden dar

dentro de su vacuola digestiva o en el citoplasma, convirtiendo al hemo tóxico en β -hematina/hemozoína (Figura 4II, 4III) no tóxica, a través de un mecanismo conocido como formación de hemozoína o pigmento malárico, considerado el mecanismo más importante para la desintoxicación del hemo libre en el *plasmodium*. El mecanismo de formación de hemozoína no está muy claro, sin embargo, este proceso es generalmente aceptado como una biomineralización o biocristalización. Aquí la formación de enlaces Fe-carboxilato y formación de cristales de β -hematina/hemozoína, a través de puentes de hidrógeno se da simultáneamente. Es por ello que el estadio eritrocítico es el más estudiado para la búsqueda de blancos antimaláricos, en vista de la importancia del mismo para la supervivencia del parásito.¹¹⁻¹⁴

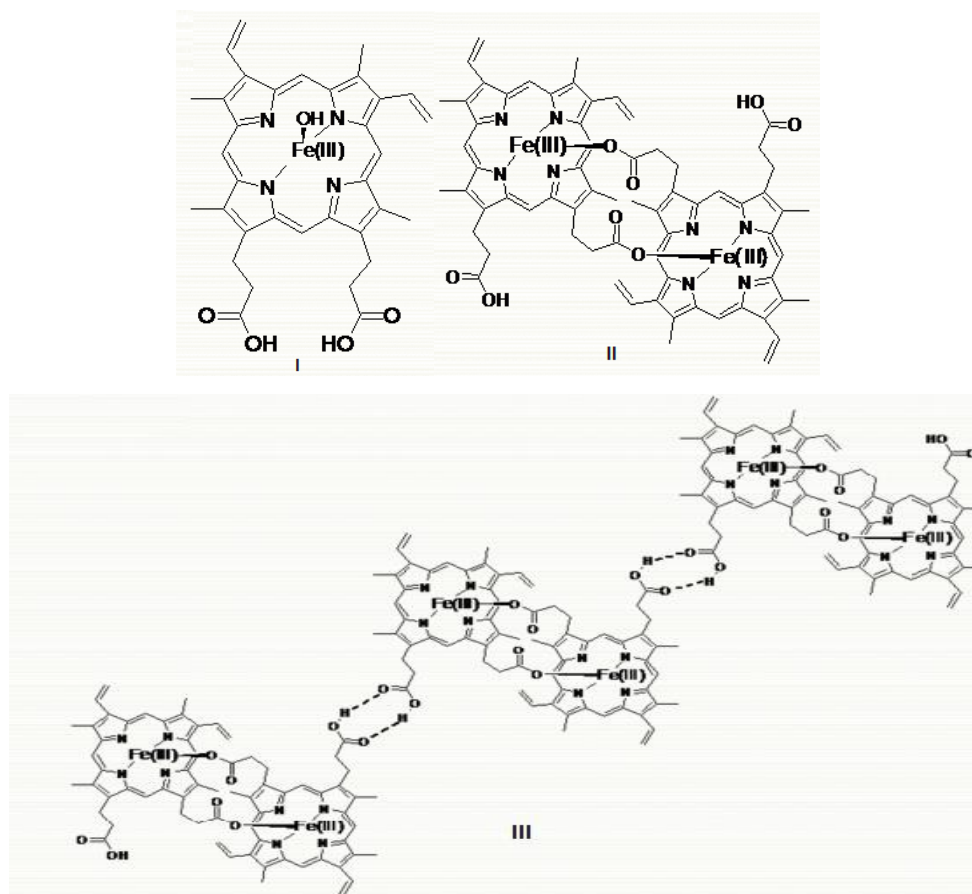


Figura 4. Estructura química de: I) Hematina, II) β -Hematina, III) Hemozoína.¹¹

2.3. Antimaláricos de uso clínico

A lo largo de la historia se han desarrollado constantemente muchos compuestos antimaláricos, debido a que los protozoos desarrollan resistencia por diversos mecanismos, además muchos de esos compuestos pueden generar efectos secundarios al paciente, lo que dificulta aún más la aplicación constante de los compuestos sintetizados. Otro aspecto importante que cabe resaltar, es que ningún compuesto antimalárico es eficaz contra las cuatro especies de protozoos, generando entonces mayor complicación al momento de aplicar soluciones al problema.

Existen cuatro posibles vías de ataque, a través de las cuales los antimaláricos pueden ejercer su acción en el ciclo biológico del *Plasmodium*, a saber:

1. Eliminar los esporozoítos transmitidos por el mosquito y / o evitar que los esporozoítos invadan al hígado.
2. Eliminar los esquizontes que residen en los hepatocitos y / o prevenir que los mismos se conviertan en merozoítos.
3. Eliminar los merozoítos en la sangre y / o evitar que se desarrollen en gametocitos.
4. Eliminar los gametocitos antes de que puedan ser ingeridos por el mosquito y reproducirse en cigoto.⁵

2.3.1. Quinina y quinidina

La corteza del árbol de la quina (*Cinchona calisaya*, *Rubiaceae*), que contiene quinina y quinidina, era conocida por sus propiedades curativas por los nativos americanos. Los alcaloides puros, quinina y quinidina se aislaron por primera vez en 1820. La quinina es un alcaloide que actúa como un esquizonticida sanguíneo y débil gametocida contra el *P. vivax* y el *P. malariae*. Como alcaloide, se acumula en las vacuolas alimenticias de especies *Plasmodium*, especialmente el *P. falciparum*. Actúa inhibiendo la biocrystalización de la hemozoina, facilitando así una agregación del grupo hemo tóxico. La quinidina es un isómero óptico de la quinina y posee propiedades similares a ésta, así como un mecanismo de acción similar.⁵

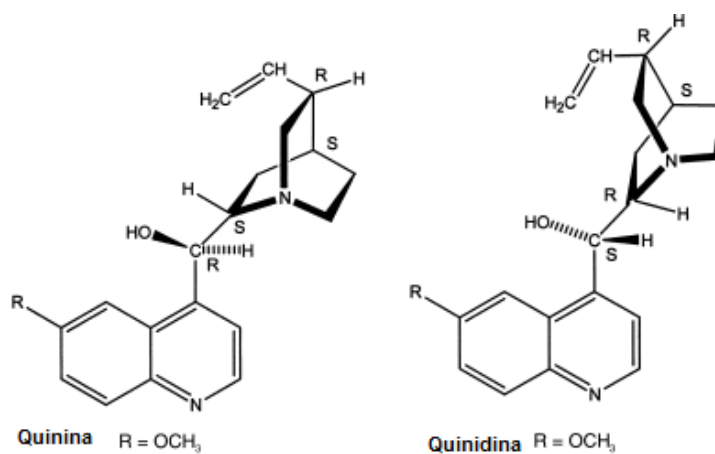


Figura 5. Estructuras químicas de la Quinina y la Quinidina.⁵

2.3.2. 4-Aminoquinolinas

Estos compuestos fueron sintetizados tomando como base a la estructura de la quinina, donde el grupo alquilhidroxi, ha sido sustituido por un grupo aminoalquil en la misma posición 4, de la quinina.⁵

Al igual que con la quinina, ambos isómeros de la 4-aminoquinolinas son activos y es por esto que clínicamente se utilizan mezclas racémicas.⁵

La cloroquina, es considerada la estructura con mayor éxito dentro de los antimaláricos, entró en uso a mediados de 1940. La sal de fosfato se utiliza en formas de dosificación oral (comprimidos), y el clorhidrato se administra parenteralmente. Hasta hace poco, la cloroquina fue el principal medicamento contra la malaria utilizada tanto para la profilaxis como el tratamiento curativo.⁵ Existen otros análogos 4-aminoquinolina como la hidroxicloroquina, amodiaquina y tebuquina, entre otros, que han sido usados para el tratamiento clínico de la malaria, sin embargo, motivado a efectos colaterales muy marcados, los mismos no son de uso generalizado como la cloroquina.

A pesar de que este fármaco se ha utilizado durante muchos años, su mecanismo de acción aún no es ampliamente conocido. Uno de esos mecanismos, se basa en que el ferriprotoporfirina IX que libera el *Plasmodium* contenido en los eritrocitos, actúa como receptor de cloroquina, esta combinación genera el complejo ferriprotoporfirina IX – cloroquina, que provoca la lisis del parásito y de la membrana de los eritrocitos.⁵

También existen pruebas de que la cloroquina, puede interferir con la capacidad de la digestión de hemoglobina por el *Plasmodium*, para la síntesis de sus proteínas.⁵

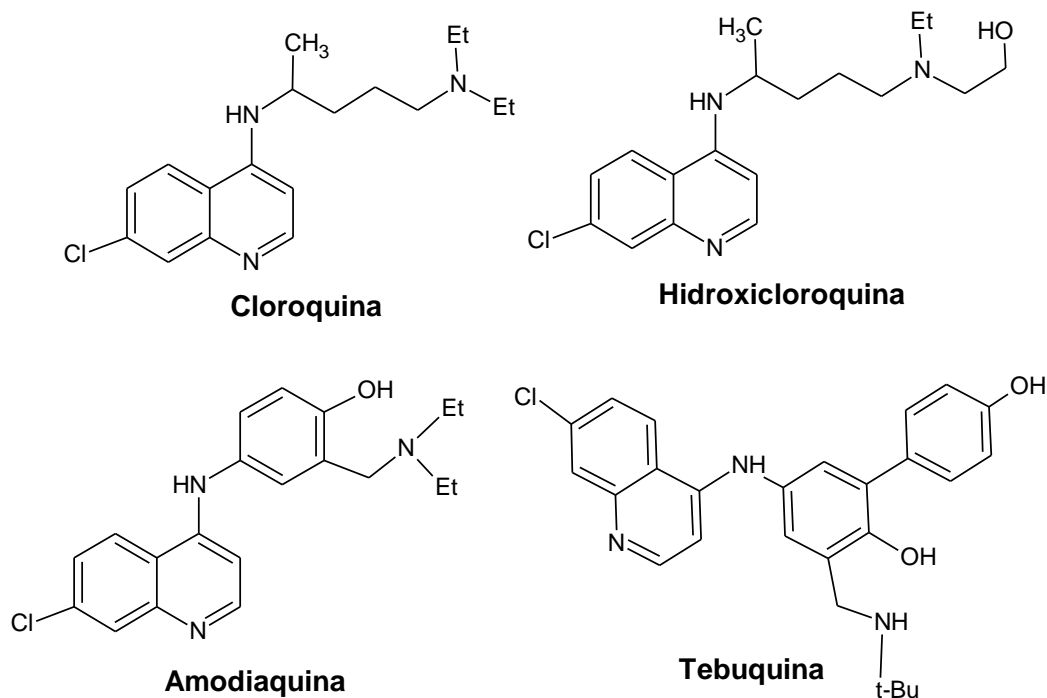


Figura 6. Estructuras Químicas de algunas 4-aminoquinolinas.⁵

2.3.3. 8-Aminoquinolinas

El otro grupo importante de antimaláricos que tiene como núcleo la quinolina son las 8-aminoquinolinas. El primer compuesto introducido en esta serie fue pamaquina, y durante la Segunda Guerra Mundial se logró sintetizar pentaquina, isopentaquina, y primaquina.⁵

Estos compuestos en contraste con otros antimaláricos, actúan en las etapas tisulares (exoeritrocítico) del *P. vivax* y *P. ovale*.⁵

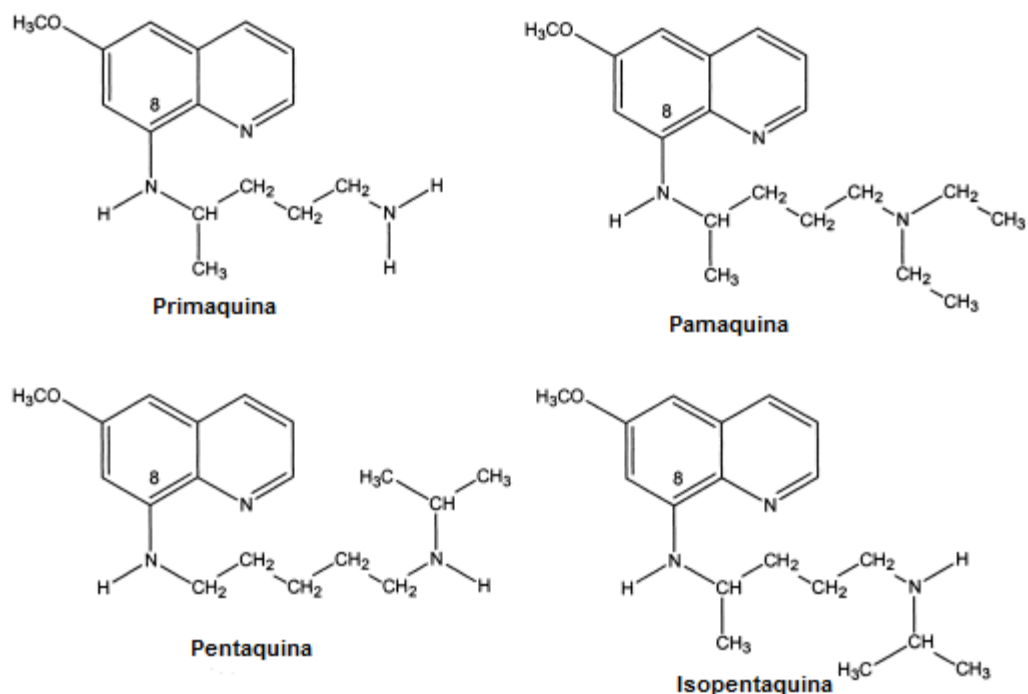


Figura 7. Estructuras químicas de algunas 8-aminoquinolinas.⁵

2.3.4. Artemisina y análogos

Este tipo de compuestos son los que han mostrado mayor eficacia en combatir la malaria. La importancia de la artemisinina y sus derivados dihidroartemisinina y artemeter, radica en sus propiedades farmacológicas, ya que reducen en 98% la biomasa parasitaria de una infección dentro de las primeras 4 horas de su administración; la oportunidad de seleccionar parásitos resistentes por concentraciones sub-terapéuticas es mínima, además, han demostrado ser seguros y eficaces frente a cepas de *P. falciparum* multirresistentes, así como por reducir la transmisión de la enfermedad, al disminuir la infectividad postratamiento como consecuencia de la rápida y eficaz destrucción de los estadios sanguíneos jóvenes del parásito, e impedir que éstos lleguen a diferenciarse en gametocitos.⁵⁻⁸

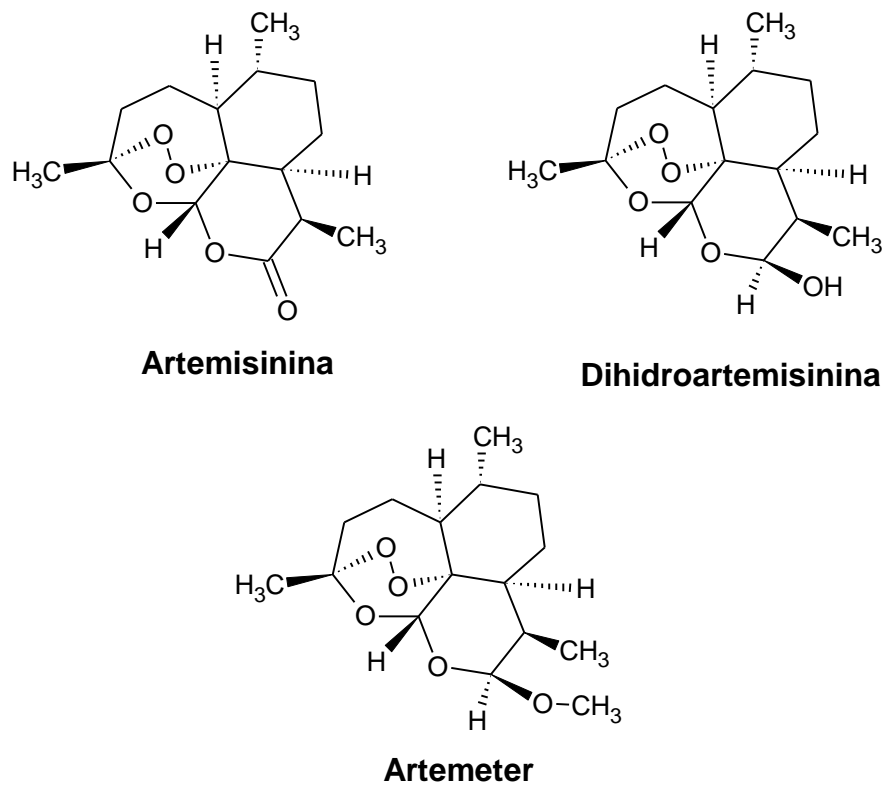


Figura 8. Estructura química de la Artemisinina y algunos de sus análogos.⁵

2.3.5. Pirimetamina

Este compuesto fue descubierto en 1950, su mecanismo de acción ha sido relacionado con el proceso de inhibición de la dihidrofolato reductasa, empleada por el parásito para la conversión del ácido fólico a tetrahidrofólico, necesario para la síntesis *de novo* de timina, necesaria en la síntesis de ADN del parásito.⁵

La pirimetamina es un esquizonticida eritrocítico efectivo contra todas las formas de malaria humana, también actúa como esquizonticida exoeritrocítico primario contra la mayoría de las infecciones causadas por el *Plasmodium*.⁵⁻⁷

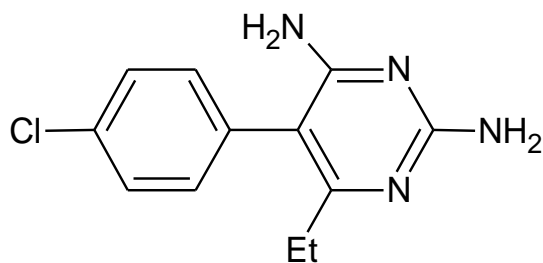


Figura 9. Estructura química de la pirimetamina.⁵

2.3.6. Sulfonamidas

Son muchos los derivados de sulfonamidas sintetizados desde 1937, algunos suelen ser muy activos contra el *P. falciparum*, pero específicamente la sulfadiazina y la sulfadoxina han sido utilizadas a nivel mundial contra la malaria. La terapia combinada sulfadoxina-pirimetamina (fansidar)[®], es la segunda opción en el tratamiento para la malaria después de la cloroquina, y actualmente forma parte de la primera línea de compuestos de uso clínico para el tratamiento de la malaria no complicada producida por *P. falciparum* en algunos países de África.⁵

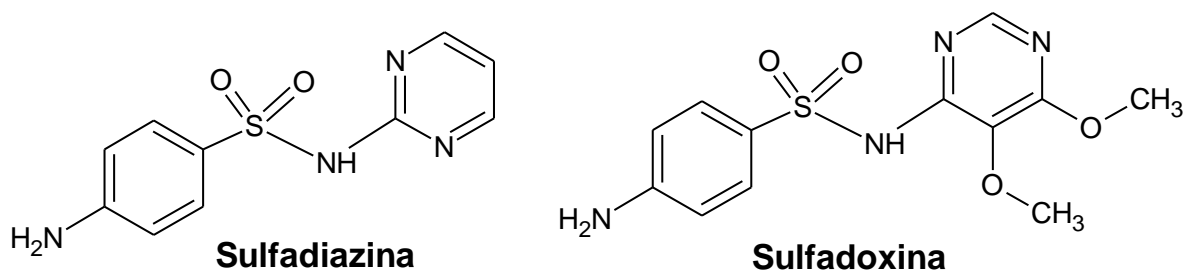


Figura 10. Estructura química de sulfadiazina y sulfadoxina.⁵

2.4. Resistencia a antimaláricos

Entre los factores que se han considerado como responsables del deterioro del control de la enfermedad a nivel mundial se incluye el surgimiento y la distribución en ciertas regiones del planeta, de cepas de *P. falciparum* resistentes a los antimaláricos. Los primeros casos de falla terapéutica a la cloroquina, el medicamento de uso más extendido, se reportaron en la década de 1950 en Suramérica y el sureste asiático. Desde entonces, se han reportado niveles variables de resistencia a este medicamento en todas las áreas endémicas para la malaria, excepto algunas regiones de Centroamérica, el Caribe y el Medio Oriente. Este problema no es exclusivo de la cloroquina, ya que se ha reportado resistencia a otros antimaláricos de primera y segunda línea, como la sulfadoxina-pirimetamina, la amodiaquina, entre otros.¹⁵⁻¹⁷

La resistencia a los antimaláricos, se define como la capacidad de una cepa de un parásito para sobrevivir, multiplicarse o ambos a pesar de la administración y la absorción de un fármaco en dosis iguales o mayores a las recomendadas, pero dentro de los límites de tolerancia del paciente. Esta resistencia surge como resultado de mutaciones espontáneas del parásito que pueden afectar el acceso, la estructura o la actividad sobre un blanco de un fármaco. Los parásitos mutantes son seleccionados si la concentración del fármaco es suficiente para inhibir el crecimiento de los parásitos sensibles, pero inadecuada para inhibir aquellos con sensibilidad reducida o resistentes.¹⁸⁻²⁰

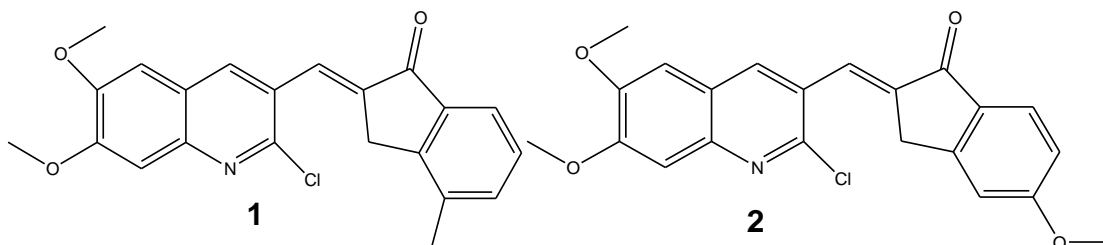
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

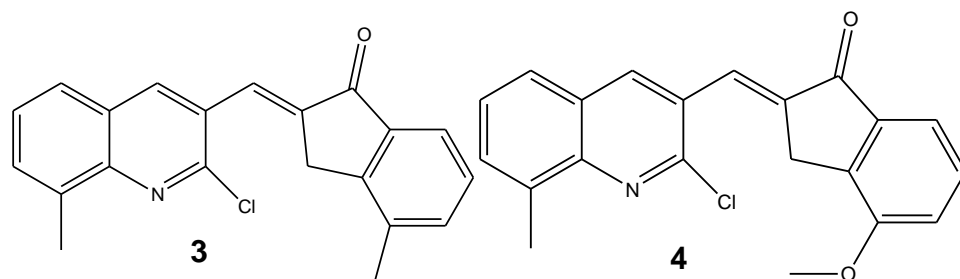
3.1. Antecedentes

Las pirazolinas, son compuestos altamente estudiados en la química de medicamentos ya que están constituidas por heterociclos de cinco miembros que a su vez contienen dos átomos de nitrógeno. Las pirazolinas, han sido reportadas con un gran rango de actividades biológicas, incluyendo actividades antiinflamatorias, antidepressivas, anticancerosas, antibacteriales, analgésicas y antimaláricas.¹¹⁻¹⁴

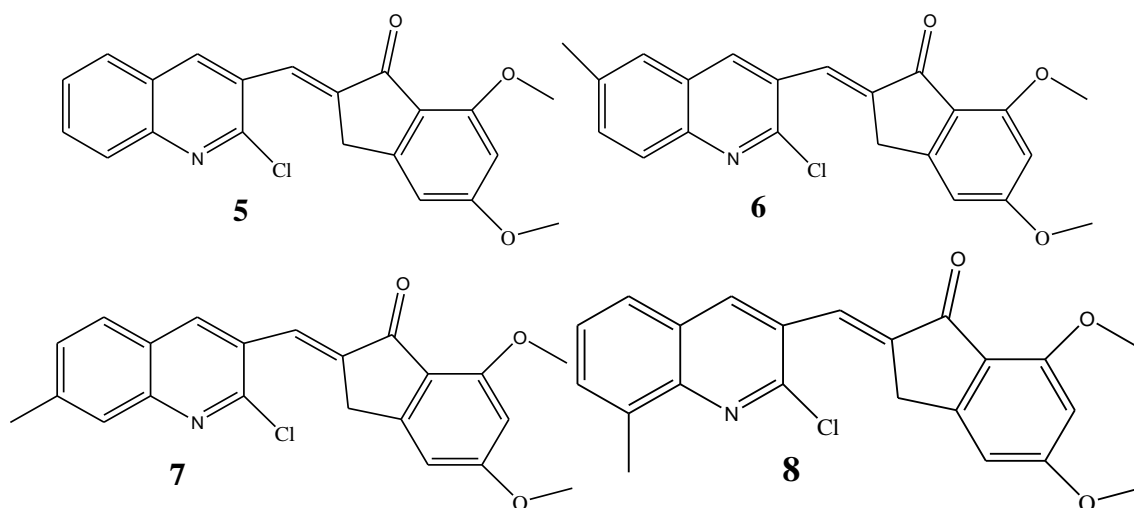
En 2005 Charris y colaboradores, reportaron la síntesis y evaluación de la actividad antimalárica de E-2-quinolilbenzocicloalcanonas. A los compuestos seleccionados se les evaluó la inhibición de la formación de β -hematina y de la hidrólisis de la hemoglobina *in vitro*. Los compuestos que mostraron resultados positivos en ambas pruebas fueron probados para evaluar su eficacia sobre el *P. berghei* de roedores.²¹

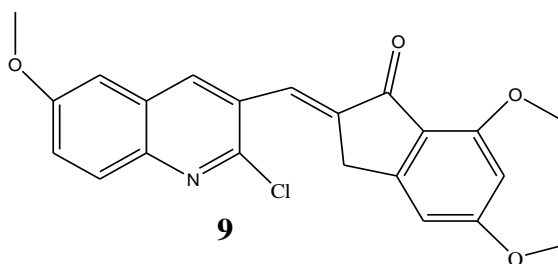
Como resultado los compuestos **1-4** mostraron más de un 50% de inhibición del grupo hemo, específicamente en la etapa de polimerización. Estos mismos compuestos **1-4** fueron seleccionados para medir su capacidad de inhibición de la hidrólisis de la hemoglobina de los cuales solo los compuestos **3** y **4**, mostraron resultados efectivos. En cuanto a la evaluación *in vivo* el compuesto **4** logró prolongar el tiempo de vida de los ratones infectados hasta 12 días.²¹



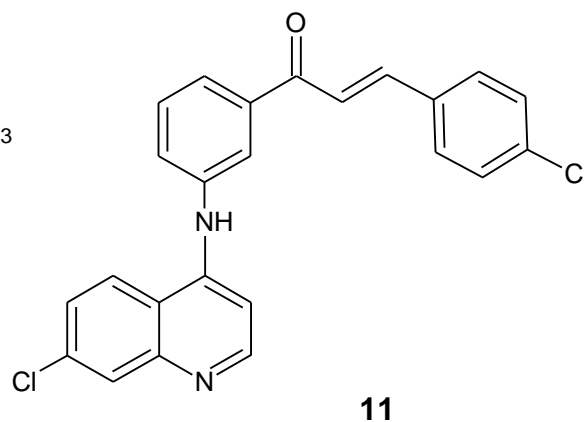
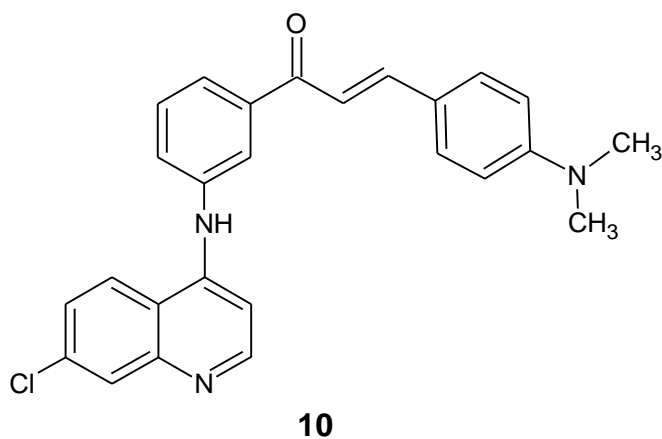


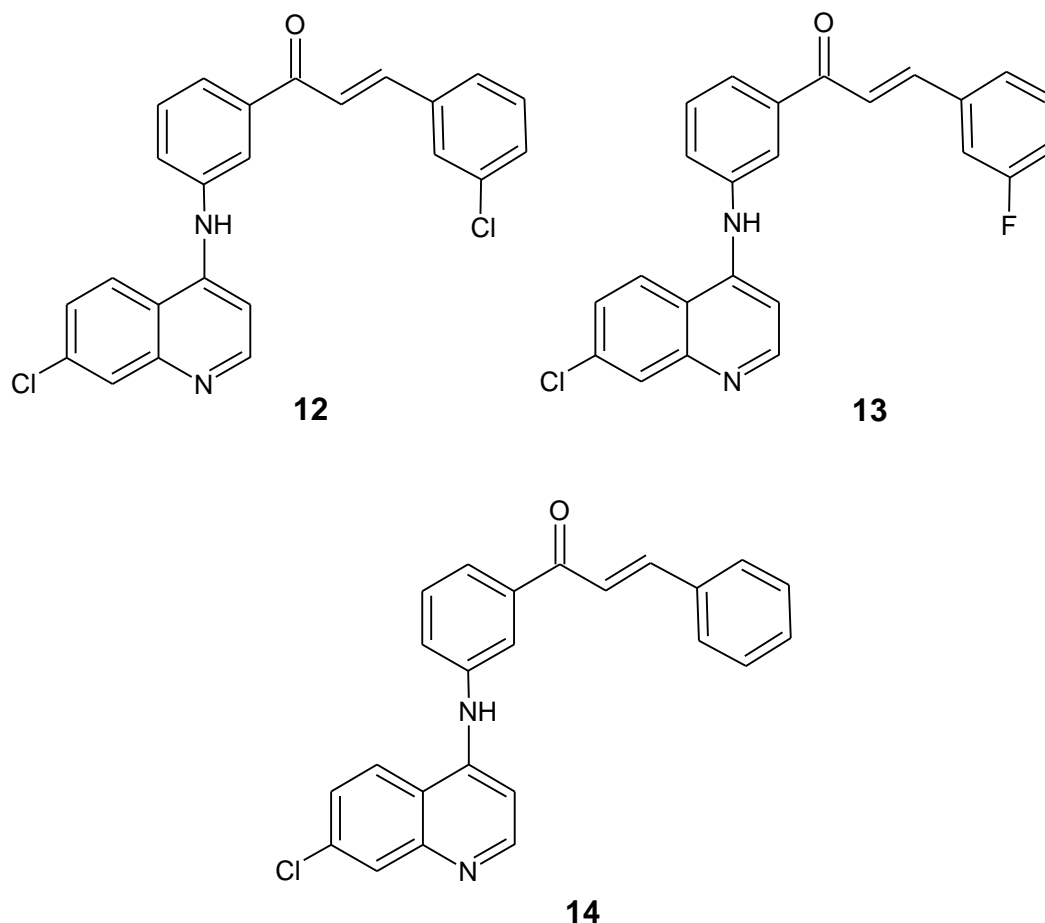
En 2007 Charris y colaboradores, reportaron la síntesis y la evaluación de la actividad antimalárica de (E) 2-(2'-Cloro-3'-quinolinil-metiliden)-5,7-dimetoxiindanonas, estas fueron preparadas mediante una condensación Claisen-Schmidt catalizada por base de las 5,7-dimetoxi-1-indanonas, con los correspondientes derivados de 2-cloro-3-formilquinolina. Evaluaron la inhibición *in vitro* de la formación de β -hematina y de la hidrólisis de la hemoglobina, así como la eficacia *in vivo* sobre ratones infectados con *P. berghei*. El análisis realizado mostró que los compuestos **5-9** resultaron con más de un 80% de la inhibición de la hidrólisis de la hemoglobina.²²





Por su parte Ferrer y colaboradores en 2009, reportaron la síntesis de [(7-cloroquinolin-4-il)amino] chalconas, compuestos con estructuras similares a los intermediarios **40a-40e**, como agentes antimaláricos. La síntesis se llevó a cabo mediante la reacción de 4,7-dicloroquinolina con la acetofenona correspondiente para formar los intermediarios [(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona y estos a su vez se hicieron reaccionar con benzaldehídos sustituidos mediante una reacción de condensación Claisen-Schmidt para obtener los derivados de [(7-cloroquinolin-4-il)amino]chalconas. Los compuestos que presentaron mayor actividad antimalárica fueron los de la serie de 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona **10-14**, revelando efectos potenciales como inhibidores de la cristalización del grupo hemo en $(93,61 \pm 0,26)\%$.²³

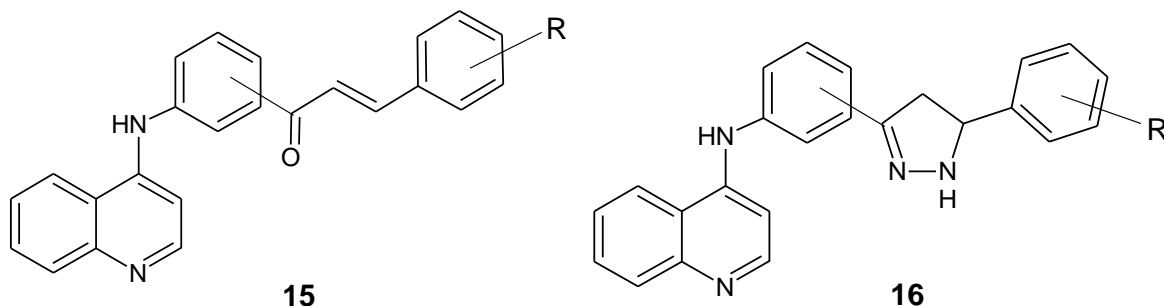




La sustitución de grupo ceto α,β -insaturado en posición 3 y la presencia de un grupo hidrógeno, halógeno o N,N-dimetilamino en el anillo aromático apunta a favor de una potencial actividad antimalárica.²³

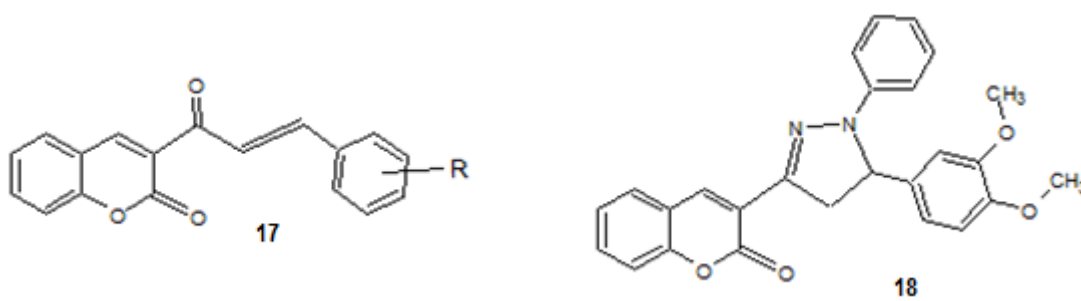
De igual manera Monasterios, en 2013, sintetizó una serie de chalconas (E)-1-(3 ó 4-(7-cloroquinolin-4-ilamino)fenil)-3-(fenilsustituido)prop-2-eno-1-ona **15**, mediante una reacción de condensación Claisen-Schmidt, con los aldehídos correspondientes, donde además aplicó la metodología de farmacomodulación para obtener los derivados rígidos de sus respectivas pirazolininas 7-cloro-N-(3 ó 4-(4,5-dihidro-5-(fenilsustituido)-1H-pirazol-3-il)fenil)quinolin-4-amina **16**, a través de una

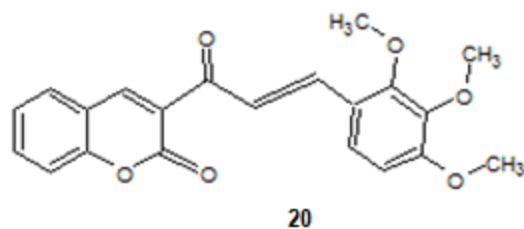
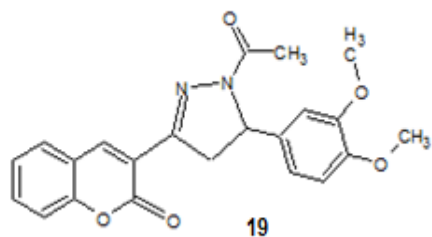
reacción de ciclocondensación de las chalconas con hidrazina hidratada. Los resultados obtenidos en la evaluación *in vitro* del efecto de estos derivados sobre la formación de la β -hematina indicaron actividades inhibitoriaspor encima del 70%.²⁴



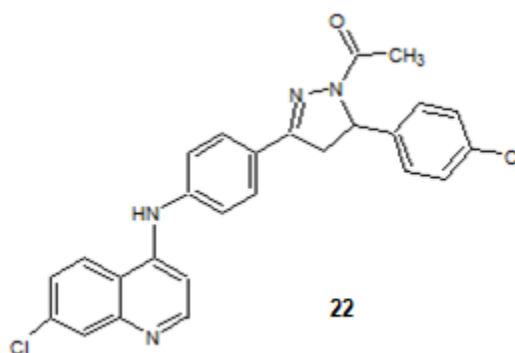
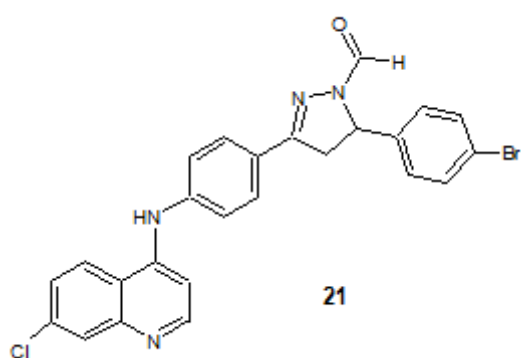
R: 4-CH₃, 2,3-di-OCH₃, 2,4-di-OCH₃, 2,5-di-OCH₃, 3,4-di-OCH₃, 3,5-di-OCH₃, 2,4,5-tri OCH₃, 3,4,5-tri-OCH₃, 2,4,6-tri-OCH₃, 2,4,5-tri-CH₃, 1,3-dioxol, 4-Cl y 4-F.

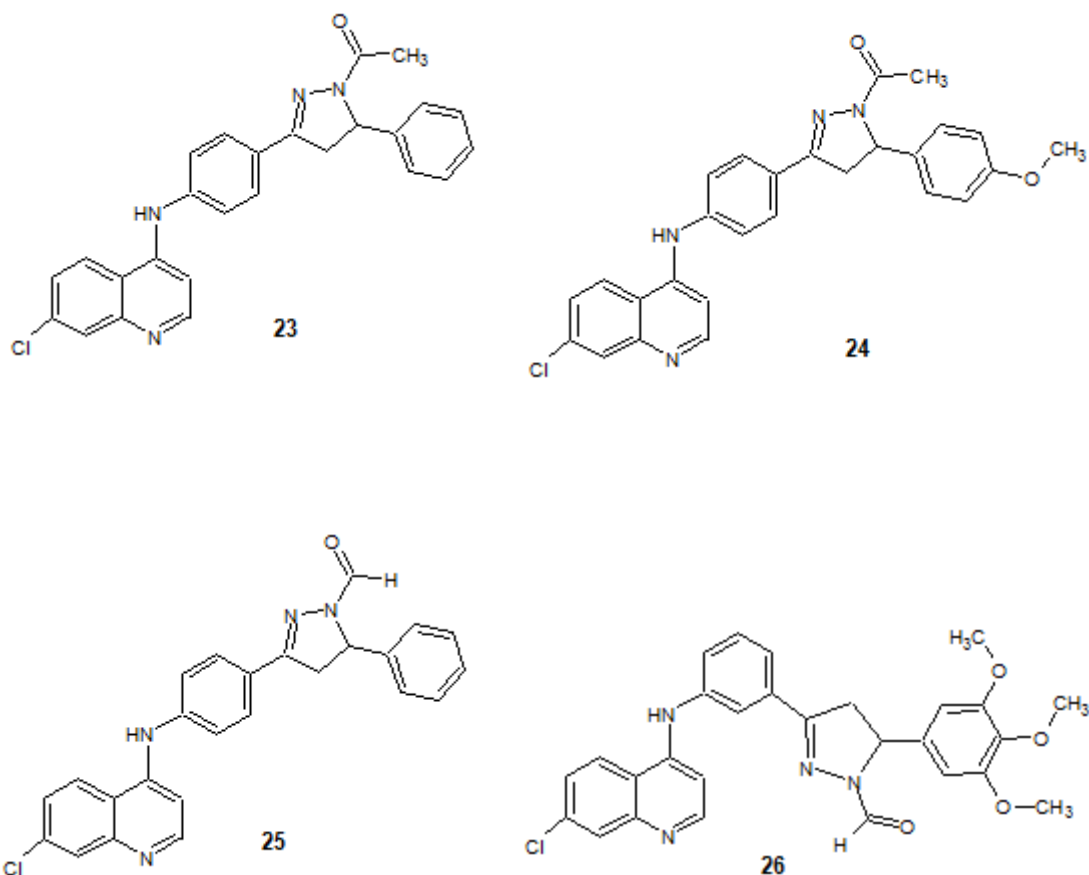
En 2009 Wanare y colaboradores, hacen referencia a la síntesis de derivados de α -piranochalconas **17** y α -piranopirazolininas **18** y **19** como potenciales inhibidores del crecimiento del *P. falciparum*. El estudio *in vitro* se evaluó por el ensayo SYBR-Green-I, obteniéndose como resultado que el compuesto **20** derivado de piranochalconas, presentó mayor actividad antimalárica y que a su vez los compuestos trimetoxilados en el anillo bencénico presentaron mejor índice de actividad en comparación con los otros compuestos sintetizados; además, todos los compuestos ensayados mostraron índices terapéuticos altos sugiriendo que eran eficientes en su acción contra el *P. falciparum*.²⁵





Insuasty y colaboradores en 2013, reportaron la síntesis de nuevos análogos de 2-pirazolinobtenidas de [(7-chloroquinolin-4-il)amino]chalconas e hidrazina como posibles potenciales agentes antimaláricos. Los compuestos seleccionados fueron sintetizados mediante una reacción de ciclicondensación de la chalcona correspondiente con hidrazina hidratada y ácido acético o fórmico según sea el caso. En lo que respecta a la actividad antimalárica, evaluaron la actividad antimalárica *in vitro*, obteniendo como resultado que el compuesto **21** reflejó una inhibición del crecimiento de *P. falciparum* de 50,8%, seguido de los compuestos **22-26** con un porcentaje mayor a 20%.²⁶

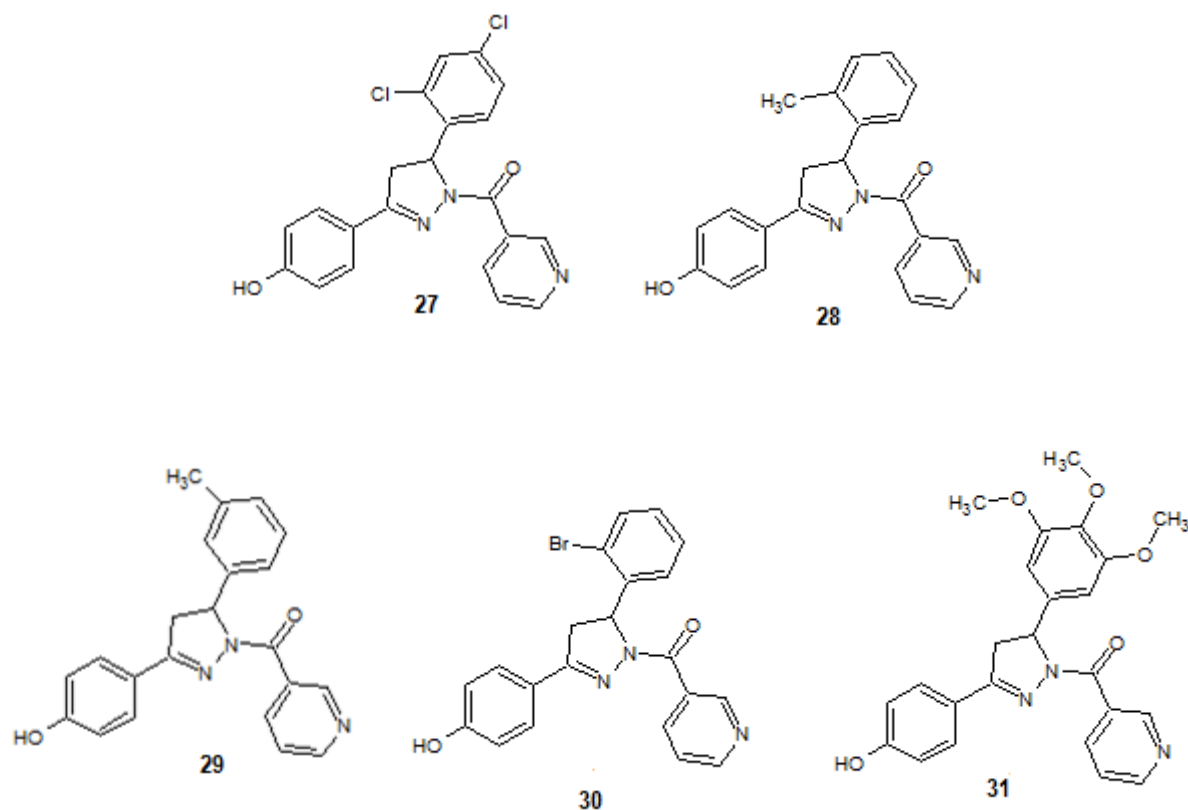




En 2009 Acharya y colaboradores, hacen referencia a la síntesis y evaluación antimalárica de pirazolinas 1,3,5-trisustituidas. La síntesis de las pirazolinas seleccionadas se llevó a cabo en un primer paso mediante la reacción de condensación Claisen-Schmidt de los benzaldehídos y las cetonas correspondientes para así obtener las chalconas, y luego como segundo paso, éstas se hicieron reaccionar con hidrazida del ácido nicotínico bajo condiciones de reflujo en n-butanol. La inhibición de las pirazolinas sobre la formación de β -hematina fue determinada y correlacionada con la actividad antimalárica. Esto sugiere que el modo de acción antimalárica de esta clase de compuestos parece ser similar a la de la cloroquina, la cual consiste en la inhibición

de la formación hemozoina. Algunos de los compuestos sintetizados mostraron mejor actividad antimalárica que la cloroquina contra la cepa resistente de *P. falciparum* y también se encontró activo, algunos compuestos en el experimento *in vivo*.²⁷

En cuanto a la actividad antimalárica *in vitro*, de toda la serie sintetizada, los compuestos **27-31** mostraron mejor actividad que el difosfato de cloroquina ($CI_{50}=0,177 \mu M$), contra la cepa del parásito resistente a la cloroquina (RKL9).²⁷

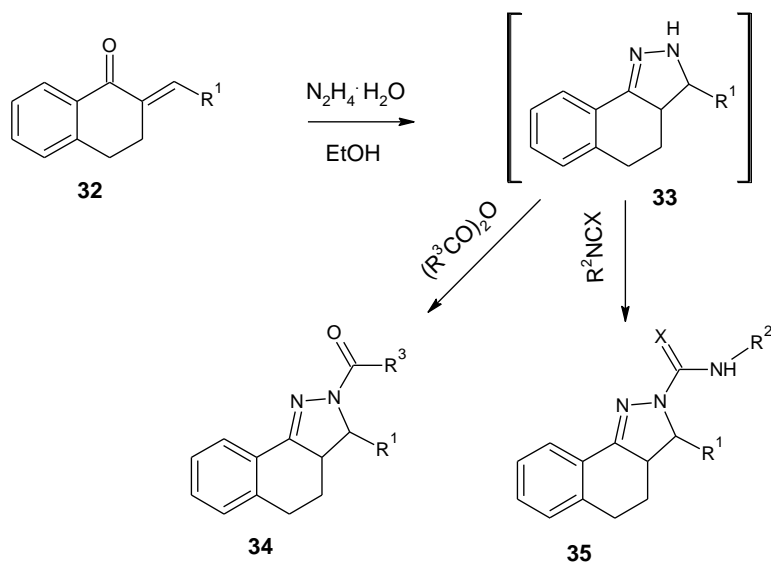


Profundizando la revisión, en cuanto a la síntesis de compuestos con estructura similar a las pirazolininas propuestas en este proyecto **41a-41e**, se reportó la síntesis de

2*H*-benzo[*g*]indazoles con actividad molusquicida en 1999 por Mishriky y colaboradores, en la cual se logró sintetizar una serie de 2-carbamoil ó tiocarbamoil-3-aryl-3,3a,4,5-tetrahidro-2*H*-benzo[*g*]indazoles **35**, y sus respectivos derivados 2-acetilados **34**.²⁸

La reacción de las chalconas **32** con hidracina hidratada, en etanol bajo reflujo genera el derivado 3-aryl-3,3a,4,5-tetrahidro-2*H*-benzo[*g*]indazoles **33** que es un sólido incoloro que gradualmente se oscurece a temperatura ambiente y eventualmente se descompone a un material aceitoso en pocas horas de mantener contacto con el aire. Por ello son aislados y directamente utilizados en la próxima reacción sin previa purificación.²⁸

Los compuestos derivados de **34** se logran haciendo reaccionar **33** con ácido acético o ácido fórmico, bajo reflujo constante.²⁸

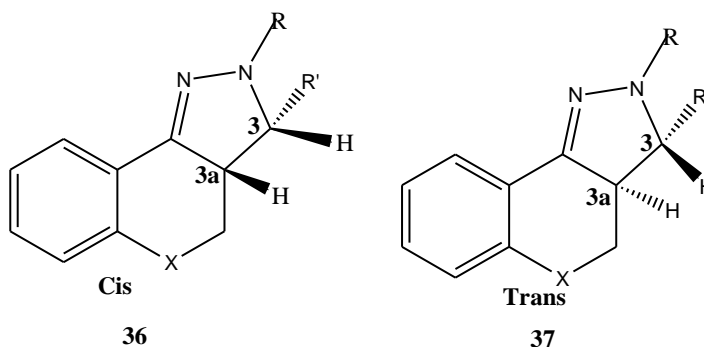


R^1 : 4- ClC_6H_4 , 4- FC_6H_4 , R^2 : C_6H_5 , CH_3 , 3,4- $Cl_2C_6H_3$, 4- $CH_3OC_6H_4$, R^3 : CH_3 , H, X: O, S.

Figura 11. Esquema de síntesis de 2-Sustituido-3-aryl-3,3a,4,5-tetrahidro-2*H*-benzo[*g*]indazoles.²⁸

Lorand y colaboradores en 1996, hacen referencia a la isomerización de 4,5-dihidropirazoles tricíclicos sustituidos **36** con ácido acético. Ellos partieron de uno de los diastereoisómeros *cis* o *trans* 3H,3a-H de 4,5-dihidropirazol **36** ó **37** para obtener la mezcla de compuestos que luego fué separada por cromatografía en columna y caracterizados por ^1H NMR y ^{13}C NMR.²⁹

Los compuestos isomerizados fueron separados por cromatografía en columna con sílica gel (kieselgel 60, 0.063-0.200mm) y emplearon como fase móvil una mezcla de disolventes (benceno-acetato de etilo-isopropanol).²⁹



R: Ph, CONH₂, CSNH₂, CH₃. R': Ph. X: CH₂, (CH₂)₂

La mezcla de compuestos provenientes de la reacción de isomerización fue caracterizada basada en los valores integrales de las señales de 3-H.²⁹

3.2. Justificación

La malaria es una enfermedad potencialmente mortal, cerca de 3.200 millones de personas alrededor del mundo corren riesgo de contraerla. Según las últimas

estimaciones publicadas por la OMS, en 2.015 se registraron 214 millones de casos de malaria que ocasionaron la muerte de unas 438.000 personas.¹⁻²

La resistencia del parásito a los antimaláricos usados en clínica es un problema recurrente, ya que generaciones anteriores de fármacos como la cloroquina y otros derivados de la misma hoy en día no son activos contra algunas cepas del parásito en algunas regiones del mundo.⁵

Bajo la premisa de diseñar y desarrollar nuevos fármacos antimaláricos, y con los antecedentes expuestos anteriormente, se propone la síntesis de una serie de derivados de 2-acetil-3,3a,4,5-tetrahidro-2*H*-benzo[g]-indazoles (pirazolinas policíclicas) y la evaluación de su potencial actividad antimalárica, como un aporte en el diseño y síntesis de nuevas estructuras orgánicas que puedan ser usadas contra esta enfermedad.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Sintetizar compuestos derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2*H*-benzo[g]-indazol y evaluar su potencial actividad antimalárica.

4.2. Objetivos específicos

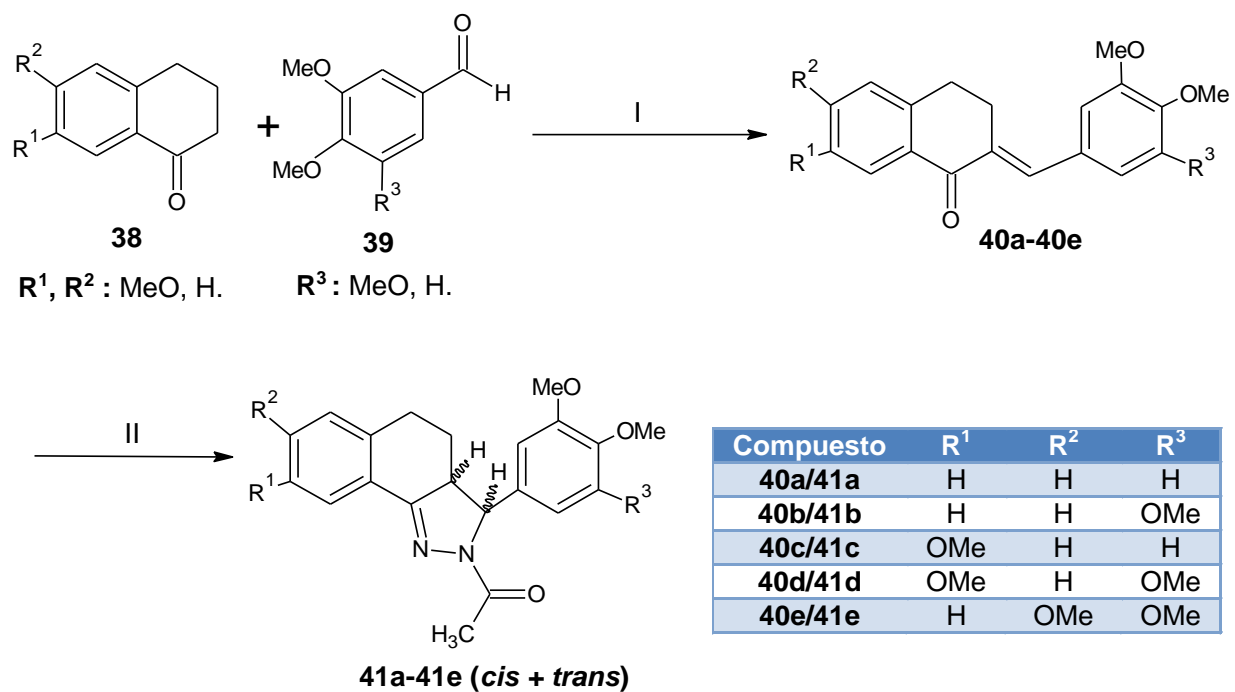
1. Sintetizar los compuestos intermediarios derivados de (*E*)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(*H*)-ona (**40a-40e**).
2. Sintetizar los compuestos derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2*H*-benzo[g]-indazol (**41a-41e**).
3. Separar la mezcla diastereoisomérica de los compuestos (**41a-41e**), mediante cromatografía en columna.
4. Caracterizar los compuestos (**40a-40e**) y (**41a-41e**) por IR, RMN¹³C y RMN ¹H.
5. Evaluar la potencial actividad antimalárica *in vitro* de los compuestos finales (**41a-41e**).

5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

5.1. Consideraciones generales.

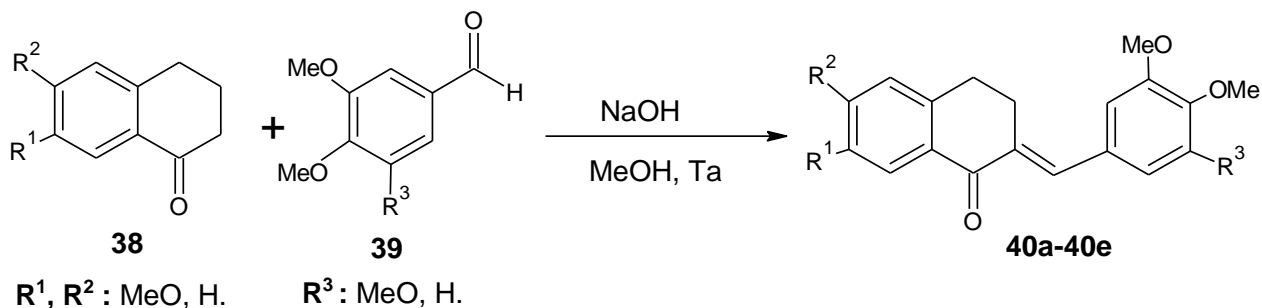
- Los espectros IR fueron tomados usando pastillas de KBr, las absorciones más importantes fueron reportadas en recíprocos de cm^{-1} .
- Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C , DEPT, HETCOR y COSY, se realizaron a temperatura ambiente utilizando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3), en un espectrómetro JEOL ECLIPSE 270 (270 MHz/67.9 MHz), en cada caso se indican los desplazamientos químicos (δ) en la escala parte por millón (ppm), como patrón interno trazas de CHCl_3 , el valor de las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz) y la asignación estructural de las mismas; las abreviaturas empleadas para indicar la multiplicidad de las señales son: singlete (s), doblete (d), triplete (t), doblete de dobletes (dd) y multiplete (m).
- Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos.
- El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (CCF), empleando cromatofolios de sílica gel marca Merck tipo 60F₂₅H, de un espesor de capa de 0,2 mm. El análisis de las placas se llevó cabo mediante una lámpara de UV de 254/365 nm o empleando una cámara de yodo.
- La purificación de los compuestos se realizó mediante cristalización, en cada caso se indica el disolvente empleado.

- Se utilizó Sílica Gel (kieselgel 60, 0.063-0.200mm), para las separaciones cromatográficas en columna.
- La evaluación de la posible actividad antimalárica se realizó de acuerdo a protocolos reportados *in vitro* mediante el ensayo de inhibición de la formación de β -hematina (IF β H), en la Unidad de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela.



Condiciones: I: MeOH, NaOH, ta, 24h. II: NH₂-NH₂·H₂O, AcOH, Ref 118 °C, 12h.

Esquema 1. Esquema de síntesis de los derivados de de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazoles 41a-41e.

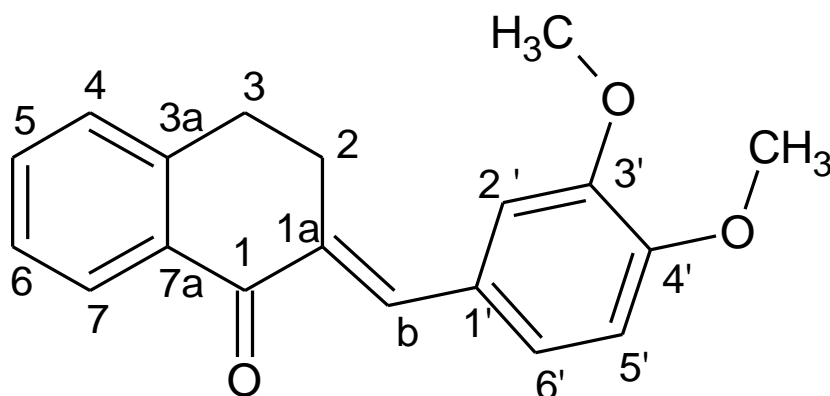


Esquema 2. Esquema de síntesis de los intermediarios derivados de (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona (40a-40e).

5.1. Procedimiento general para la síntesis de los intermediarios de (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(2H)-ona 40a-40e.

En un balón de dos bocas de fondo redondo de 50 ml provisto de agitación magnética, se colocó 1,37 mmol (1 equiv) de α -tetralona, 6-metoxi- α -tetralona ó 7-metoxi- α -tetralona según sea el caso, 1,1 equiv en moles del aldehído correspondiente, 1 granalla de hidróxido de sodio y 5 ml de metanol a temperatura ambiente por 24 horas. El sólido obtenido fue filtrado, lavado con metanol frío y recrystalizado con una mezcla de solventes agua-etanol.

5.1.1. Síntesis de 1a-(3',4'-Dimetoxi-benciliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona
(40a)



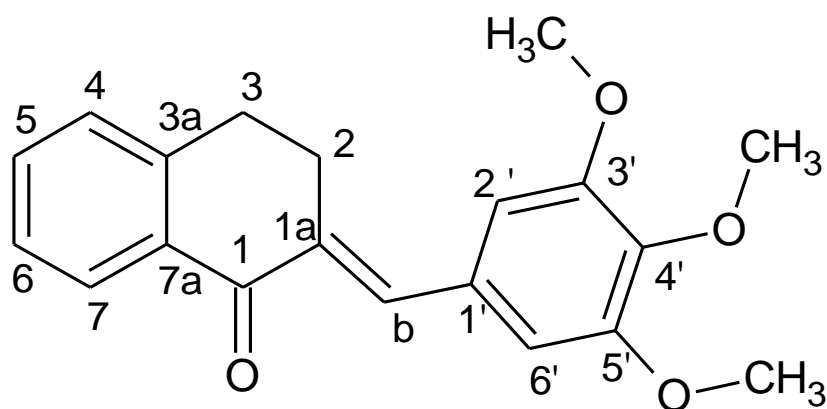
Sólido amarillo. Rendimiento 98%. Pf: 129-130 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2965 (CH_2), 1665 ($\text{C}=\text{O}$), 1594-1510 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 2,93 (t, 2H, H_2 , $\text{J}=6,69$), 3,15 (t, 2H, H_3 , $\text{J}=6,42$), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 6,88-6,91 (m, 2H, H_2' , H_6'), 6,97 (d, 1H, H_5'), 7,05 (dd, 1H, H_4 , $\text{J}_{\text{H}_4,\text{H}_6}=2,21$, $\text{J}_{\text{H}_4,\text{H}_5}=9,63$), 7,31-7,50 (m, 2H, H_5 , H_6), 7,82 (s, 1H, H_b), 8,11 (dd, 1H, H_7 , $\text{J}_{\text{H}_7\text{H}_5}=1,48$, $\text{J}_{\text{H}_7\text{H}_6}=9,39$).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 27,36 (C_2), 28,88 (C_3), 56,04 (2OCH_3), 111,09 (C_2'), 113,45 (C_5'), 123,37 (C_6'), 127,06-128,23 (C_4 , C_5 , C_6), 133,18 (C_7), 134,98-153,22 (C_{1a} , C_{3a} , C_{7a} , $\text{C}_{1'}$, $\text{C}_{3'}$, $\text{C}_{4'}$, C_b), 187,75 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.2. Síntesis de 1a-(3',4',5'-Trimetoxi-benciliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (40b).



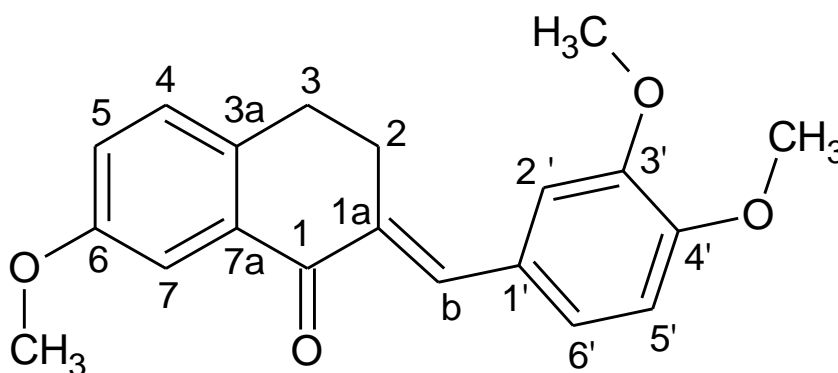
Sólido amarillo. Rendimiento 98%. Pf: 126-128 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2965 (CH_2), 1660 ($\text{C}=\text{O}$), 1584-1504 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, $\text{CDCl}_3\delta$: 2,95 (t, 2H, H_2 , $J=6,66$), 3,15 (t, 2H, H_3 , $J=5,91$), 3,87 (s, 3H, OCH_3), 3,87 (s, 3H, OCH_3), 3,88 (s, 3H, OCH_3), 6,66 (s, 2H, H_2' , H_6'), 7,32-7,50 (m, 3H, $\text{H}_4, \text{H}_5, \text{H}_6$), 7,59 (s, 1H, H_b), 8,09 (dd, 1H, $\text{H}_7, J_{\text{H}_5, \text{H}_7} = 2,72 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}_5, \text{H}_6} = 10,88 \text{ Hz}$)

RMN^{13}C , 270MHz, $\text{CDCl}_3\delta$: 27,41 (C_2), 28,92 (C_3), 56,32 (2OCH_3), 61,02 (2OCH_3), 107,50 (C_2', C_6'), 127,12-133,32 ($\text{C}_4, \text{C}_5, \text{C}_6$), 133,32 (C_7), 134,98-153,25 ($\text{C}_{1a}, \text{C}_{3a}, \text{C}_{7a}, \text{C}_{1'}, \text{C}_{3'}, \text{C}_{4'}, \text{C}_{5'}, \text{C}_b$), 187,62 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.3. Síntesis de 1a-(3',4'-Dimetoxi-benciliden)-6-metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (**40c**).



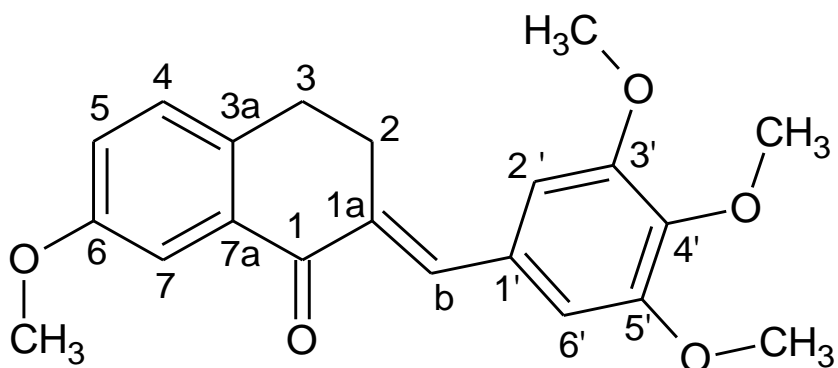
Sólido amarillo. Rendimiento 95%. Pf: 124-126 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2937 (CH_2), 1656 ($\text{C}=\text{O}$), 1593-1511 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 2,88 (t, 2H, H_2 , $J=5,67$), 3,13 (t, 2H, H_3 , $J=6,42$), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 3,90 (s, 3H, OCH_3), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 8,88-6,92 (m, 2H, H_2' , H_6'), 6,97 (d, 1H, H_5' , $J=8,39$), 7,04 (dd, 1H, H_5 , $J_{\text{H}_5,\text{H}_7} = 2,72$ Hz, $J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = 10,88$ Hz), 7,13 (d, 1H, H_4 , $J=7,91$), 7,59 (d, 1H, H_7 , $J=2,45$), 7,81 (s, 1H, H_b).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 27,54 (C_2), 28,06 (C_3), 55,61 (OCH_3), 56,61 (OCH_3), 56,05 (2OCH_3), 110,52,64 (C_2'), 111,16 (C_6'), 113,53 (C_5'), 121,36 (C_7), 123,36 (C_4), 128,88 (C_5), 133,93-158,86 (C_{1a} , C_{3a} , C_6 , C_{7a} , C_1' , C_3' , C_4' , C_b), 187,67 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.4. Síntesis de 1a-(3',4',5'-trimetoxi-benciliden)- 6-metoxi- 3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (**40d**).



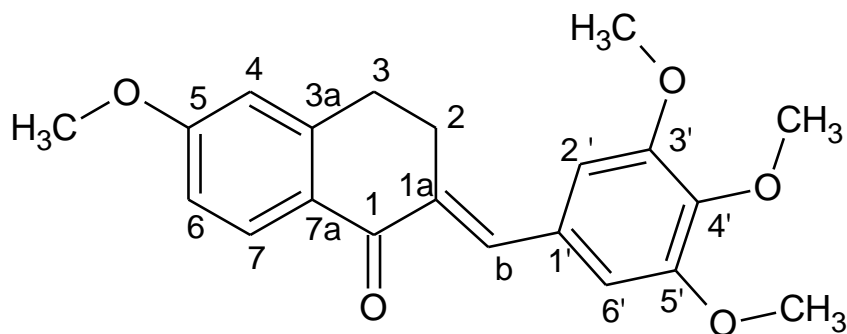
Sólido amarillo. Rendimiento 96%. Pf: 129-130 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2936 (CH_2), 1660 ($\text{C}=\text{O}$), 1595-1500 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 2,88 (t, 2H, H_2 , $J=5,94$), 3,12 (t, 2H, H_3 , $J=5,69$), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 3,87 (s, 3H, OCH_3), 3,87 (s, 3H, OCH_3), 3,88 (s, 3H, OCH_3), 7,04 (s, 2H, H_2' , H_6'), 7,07 (dd, 1H, H_5 , $J_{\text{H}_5,\text{H}_7} = 2,72$ Hz, $J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = 10,88$ Hz), 7,14 (d, 1H, H_4 , $J=8,39$), 7,59 (d, 1H, H_7 , $J=2,72$), 7,78 (s, 1H, H_b).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 27,58 (C_2), 28,10 (C_3), 55,61 (OCH_3), 56,35 (2OCH_3), 60,98 (OCH_3), 107,64 (C_2' , C_6'), 110,55 (C_7), 121,50 (C_5), 134,42 (C_4), 134,98-158,80 (C_{1a} , C_{3a} , C_6 , C_{7a} , $\text{C}_{1'}$, $\text{C}_{3'}$, $\text{C}_{4'}$, $\text{C}_{5'}$, C_b), 187,62 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.5. Síntesis de 1a-(3',4',5'-trimetoxi-bencliden)-5-metoxi-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (**40e**).

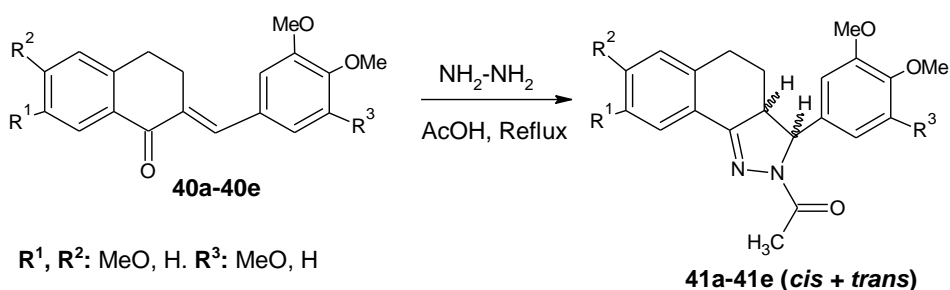


Sólido amarillo. Rendimiento 98%. Pf: 125-126 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2941 (CH_2), 1651 ($\text{C}=\text{O}$), 1606-1506 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 2,91 (t, 2H, H_2 , $J=6,66$), 3,12 (t, 2H, H_3 , $J=6,42$), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 3,87 (s, 3H, OCH_3), 6,64 (s, 2H, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{6'}$), 6,69 (d, 1H, H_4 , $J=2,24$), 6,87 (dd, 1H, H_6 , $J_{\text{H}_6,\text{H}_4} = 2,21$ Hz, $J_{\text{H}_6,\text{H}_7} = 10,88$ Hz), 7,75 (s, 1H, H_b), 8,07 (d, 1H, H_7 , $J=8,66$)

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 27,42 (C_2), 29,34 (C_3), 55,48 (OCH_3), 56,34 (2OCH_3), 60,98 (OCH_3), 107,56 ($\text{C}_{2'}$, $\text{C}_{6'}$), 112,39 (C_4), 113,36 (C_6), 127,19 (C_7), 130,81-163,86 (C_{1a} , C_{3a} , C_5 , C_{7a} , $\text{C}_{1'}$, $\text{C}_{3'}$, $\text{C}_{4'}$, $\text{C}_{5'}$, C_b), 186,56 ($\text{C}=\text{O}$).



Esquema 3. Síntesis de los derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahydro-2H-benzo[g]-indazoles (41a-41e).

5.1. Procedimiento general para la síntesis de derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahydro-2H-benzo[g]-indazoles (41a-41e).

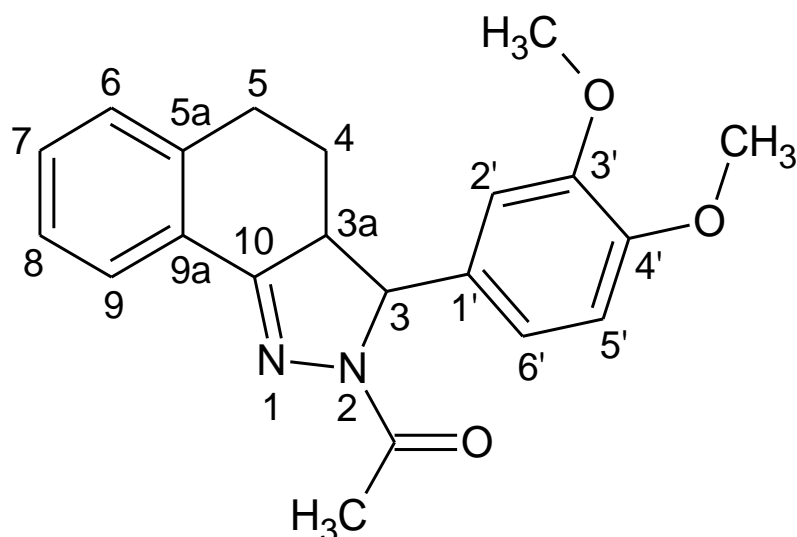
En un balón de fondo redondo provisto de un refrigerante y agitación magnética, se colocó 0,6 mmol (1 equiv) de los intermediarios **40a-40e**, 3 mmol (5 equiv) de hidrazina monohidratada y 5ml de ácido acético, bajo condiciones de reflujo entre 118-128 °C por 12 h. La solución obtenida fué neutralizada con hidróxido de amonio concentrado obteniéndose un precipitado blanco que fue filtrado y lavado con agua. El compuesto obtenido como la mezcla de los diastereoisómeros *cis* y *trans*, determinado por cromatografía de capa fina (CCF) y RMN¹H, fue separado por la técnica de cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria sílica gel (kieselgel 60, 0.063-0.200mm) y se empleó como fase móvil una mezcla de disolventes (Hexano-

cloroformo-isopropanol). La mezcla de solventes empleada para la separación de los diastereoisómeros *cis* y *trans* de **41a-41e**, fue la siguiente:

Tabla 1. Mezcla de solventes empleados para la separación por cromatografía en columna de las mezclas diastereoisoméricas 41a-41e.

Mezcla de compuestos	Mezcla de solventes
41a	Hexano-cloroformo-isopropanol (7:2,95:0,05)
41b	Hexano-cloroformo-isopropanol (7:2,95:0,05)
41c	Hexano-cloroformo-isopropanol (7:2,9:0,1)
41d	Hexano-cloroformo-isopropanol (7:2,9:0,1)
41e	Hexano-cloroformo-isopropanol (7:2,9:0,1)

5.1.1. Síntesis de *trans*-1-[3-(3',4'-Dimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona, (**41a**).



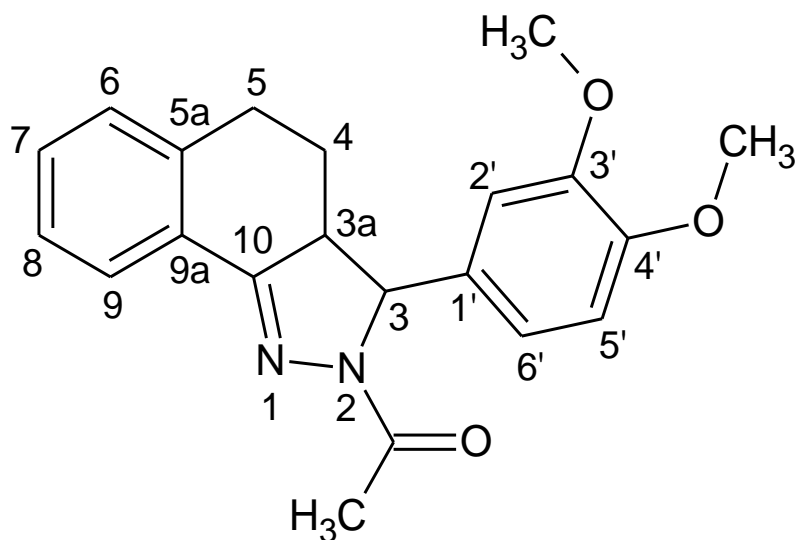
Sólido beige. Rendimiento 33%. Pf: 183-184 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2932 (CH_2), 1658 ($\text{C}=\text{O}$), 1592-1515 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,91-2,05 (m, 2H, H_4), 2,33 (s, 3H, CH_3), 2,92-2,95 (m, 2H, H_5), 3,23-3,28 (m, 1H, H_{3a}), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 4,90 (d, 1H, H_3 , $J=9,39$ Hz), 6,79-6,81 (m, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 6,84 (d, 1H, H_5 , $J=7,91$), 7,16-7,35 (m, 3H, $\text{H}_{6,7,8}$), 7,94 (dd, 1H, H_9 , $J_{\text{H}_9,\text{H}_8} = 2,19$ Hz, $J_{\text{H}_7,\text{H}_9} = 7,66$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 22,36 (CH_3), 28,12 (C_4), 29,37 (C_5), 55,81 (C_{3a}), 56,03 (2 OCH_3), 67,49 (C_3), 109,09-111,63 ($\text{C}_{2',6'}$), 118,25 (C_5'), 124,86 (C_9), 126,81-130,41 ($\text{C}_6, 7, 8$), 165,17 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.2. Síntesis de *cis*-1-[3-(3',4'-Dimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona, (**41a**).



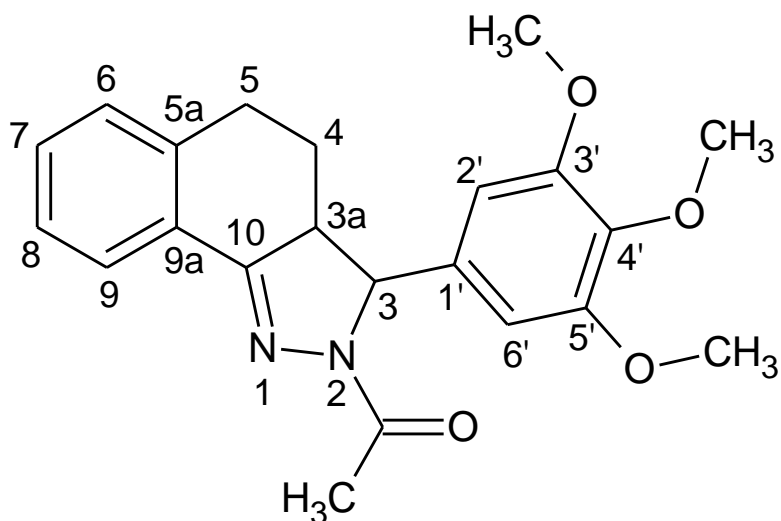
Sólido beige. Rendimiento 31%. Pf: 182-183 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2944 (CH_2), 1660 ($\text{C}=\text{O}$), 1590-1515 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,75-1,79(m, 2H, H_4), 2,44 (s, 3H, CH_3), 2,78-2,90 (m, 2H, H_5), 3,53-3,58 (m, 1H, H_{3a}), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 5,61 (d, 1H, H_3 , $J=11,12$ Hz), 6,57-6,60 (m, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 6,73 (d, 1H, $\text{H}_{5'}$, $J=7,91$), 7,12-7,33 (m, 3H, $\text{H}_{6,7,8}$), 7,03 (dd, 1H, H_9 , $J_{\text{H}_9,\text{H}_8} = 2,19$ Hz, $J_{\text{H}_7,\text{H}_9} = 7,66$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 21,83 (CH_3), 23,98 (C_4), 29,49 (C_5), 48,83 (C_{3a}), 56,02 (2OCH_3), 63,09 (C_3), 109,93-111,65 ($\text{C}_{2',6'}$), 118,41 ($\text{C}_{5'}$), 125,05 (C_9), 126,73-130,54 ($\text{C}_{6,7,8}$), 168,53 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.3. Síntesis de *trans*-1-[3-(3',4',5'-Trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona (**41b**).



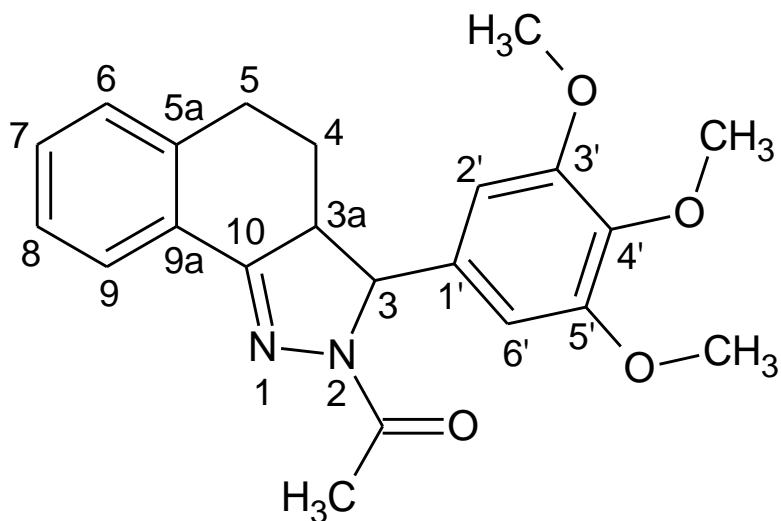
Sólido beige. Rendimiento 48%. Pf: 174-176 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2930 (CH₂), 1659 (C=O), 1592-1506 (CH-Ar).

RMN¹H, 270MHz, CDCl₃ δ: 1,95-2,01 (m, 2H, H₄), 2,28 (s, 3H, CH₃), 2,92-2,97 (m, 2H, H₅), 3,16-3,23 (m, 1H, H_{3a}), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 4,83 (d, 1H, H₃, J=9,15 Hz), 6,48 (s, 2H, H_{2',6'}), 7,17-7,35 (m, 3H, H_{6,7,8}), 7,94 (dd, 1H, H₉, J_{H9,H8}= 2,21 Hz, J_{H7,H9} = 7,91 Hz).

RMN¹³C, 270MHz, CDCl₃ δ: 22,27 (CH₃), 28,19 (C₄), 29,33 (C₅), 55,87 (2OCH₃), 56,26 (C_{3a}), 60,76 (OCH₃), 67,93 (C₃), 102,94 (C_{2',6'}), 124,87 (C₉), 126,80-130,48 (C_{6,7,8}), 170,60 (C=O).

5.1.4. Síntesis de *cis*-1-[3-(3',4',5'-Trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol-2-il]-etanona (**41b**).



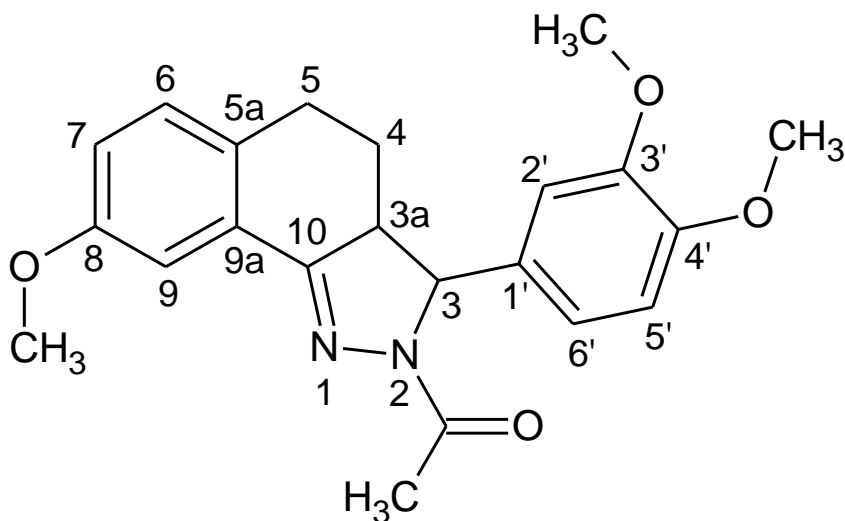
Sólido beige. Rendimiento 29%. Pf: 172-174 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2930 (CH_2), 1658 ($\text{C}=\text{O}$), 1599-1506 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,68-2,1,84 (m, 2H, H_4), 2,45 (s, 3H, CH_3), 2,87-2,91 (m, 2H, H_5), 3,54-3,58 (m, 1H, H_{3a}), 3,76 (s, 3H, OCH_3), 3,77 (s, 3H, OCH_3), 3,77 (s, 3H, OCH_3), 5,61 (d, 1H, H_3 , $J_{\text{H}_9, \text{H}_8} = 2,16$ Hz, $J_{\text{H}_7, \text{H}_9} = 7,40$ Hz), 6,25 (s, 2H, $\text{H}_{2', 6'}$), 7,23-7,29 (m, 3H, $\text{H}_{6, 7, 8}$), 8,03 (dd, 1H, H_9 , $J_{\text{H}_9, \text{H}_8} = 2,16$ Hz, $J_{\text{H}_7, \text{H}_9} = 7,40$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 23,95 (CH_3), 28,19 (C_4), 29,32 (C_5), 46,26 (C_{3a}), 56,22 (2OCH_3), 60,83 (OCH_3), 63,36 (C_3), 103,38 ($\text{C}_{2', 6'}$), 124,97 (C_9), 126,60-132,72 ($\text{C}_6, 7, 8$), 170,60 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.5. Síntesis de *trans*-1-[3-(3',4'-Dimetoxifenil)-8-metoxi-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (**41c**).



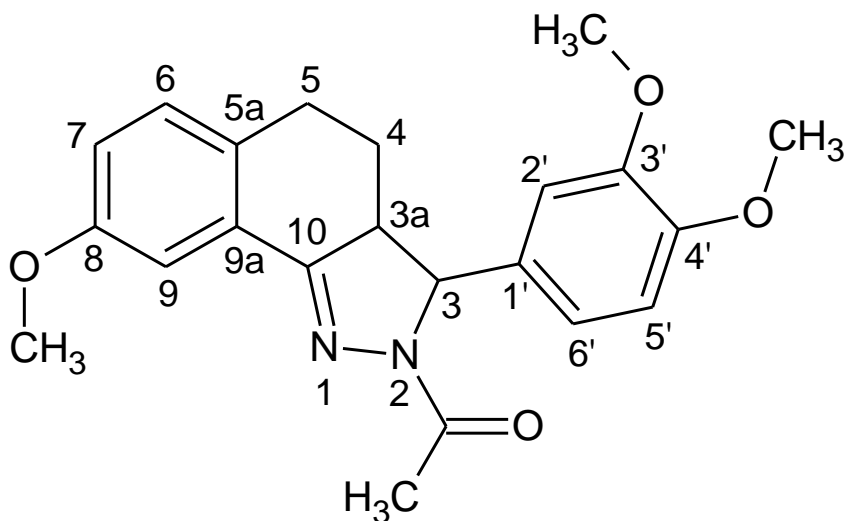
Sólido beige. Rendimiento 43%. Pf: (176-177) °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2932-2837 (CH_2), 1668 ($\text{C}=\text{O}$), 1588-1505 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,86-1,96 (m, 2H, H_4), 2,40 (s, 3H, CH_3), 2,84-2,87 (m, 2H, H_5), 3,18-3,25 (m, 1H, H_{3a}), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 4,85 (d, 1H, H_3 , $J=9,39$ Hz), 6,78-6,84 (m, 2H, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{6'}$), 6,85 (d, 1H, $\text{H}_{5'}$, $J=9,15$ Hz), 6,91 (dd, 1H, H_7 , $J_{\text{H}_7,\text{H}_9}=2,72$ Hz, $J_{\text{H}_7,\text{H}_6}=11,12$ Hz), 7,07 (d, 1H, H_6 , $J=8,64$ Hz), 7,42 (d, 1H, H_9 , $J=1,97$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 22,38 (CH_3), 28,38 (C_4), 28,63 (C_5), 55,58 (OCH_3), 55,76 (C_{3a}), 56,02 (2 OCH_3), 67,60 (C_3), 107,77 (C_9), 109,05 ($\text{C}_{2'}$), 111,61 ($\text{C}_{5'}$), 118,23 (C_6), 118,45 (C_7), 130,27 (C_6), 168,52 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.6. Síntesis de *cis*-1-[3-(3',4'-Dimetoxifenil)-8-metoxi-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (**41c**).



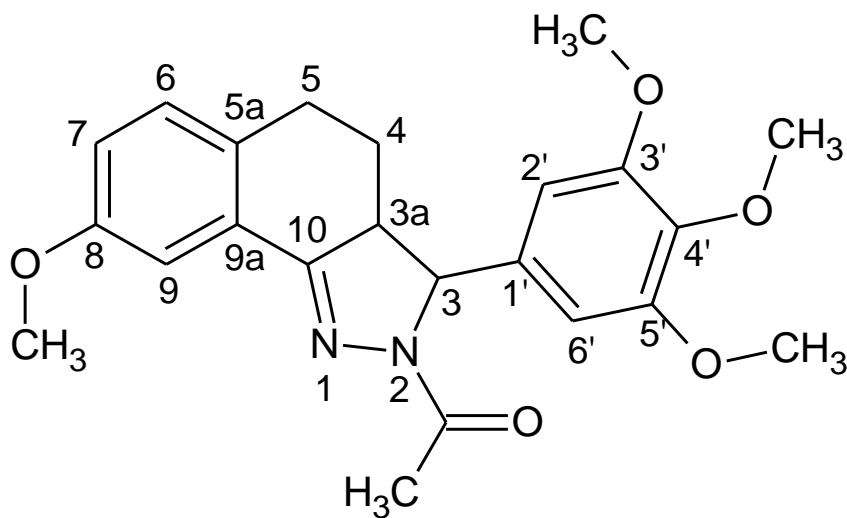
Sólido beige. Rendimiento 38%. Pf: (170-172) °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2935-2836 (CH_2), 1658 ($\text{C}=\text{O}$), 1592-1505 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,73-1,79 (m, 2H, H_4), 2,42 (s, 3H, CH_3), 2,77-2,83 (m, 2H, H_5), 3,51-3,56 (m, 1H, H_{3a}), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 5,62 (d, 1H, H_3 , $J=10,88$ Hz), 6,57-6,61 (m, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 6,73 (d, 1H, $\text{H}_{5'}$, $J=8,15$ Hz), 6,90 (dd, 1H, H_7 , $J_{\text{H}_7,\text{H}_9}=2,72$ Hz, $J_{\text{H}_7,\text{H}_6}=11,12$ Hz), 7,03 (d, 1H, H_6 , $J=8,39$ Hz), 7,51 (d, 1H, H_9 , $J=2,48$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 21,95 (CH_3), 24,23 (C_4), 28,74 (C_5), 48,75 (C_{3a}), 55,57 (OCH_3), 55,94 (2 OCH_3), 63,14 (C_3), 107,81 (C_9), 109,67 ($\text{C}_{2'}$), 111,42 ($\text{C}_{5'}$), 118,28 (C_6), 118,45 (C_7), 130,17 (C_6), 168,53 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.7. Síntesis de *trans*-1-[8-Metoxi-3-(3',4',5'-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (**41d**).



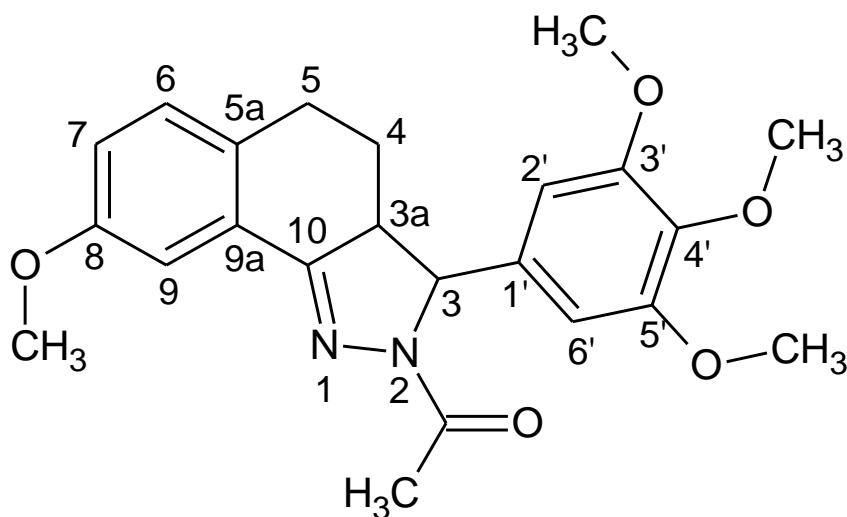
Sólido beige. Rendimiento 48%. Pf: (186-177) °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2937 (CH_2), 1652 ($\text{C}=\text{O}$), 1605-1505 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,88-1,97 (m, 2H, H_4), 2,42 (s, 3H, CH_3), 2,85-2,88 (m, 2H, H_5), 3,15-3,22 (m, 1H, H_{3a}), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 4,82 (d, 1H, H_3 , $J=9,39$ Hz), 6,47 (s, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 6,92 (dd, 1H, H_7 , $J_{\text{H}_7,\text{H}_9}=2,72\text{Hz}$, $J_{\text{H}_7,\text{H}_6}=11,39\text{Hz}$), 7,07 (d, 1H, H_6 , $J=8,66$ Hz), 7,42 (d, 1H, H_9 , $J=2,70$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 22,37 (CH_3), 28,43 (C_4), 28,59 (C_5), 55,58 (OCH_3), 55,81 (C_{3a}), 56,20 (2 OCH_3), 60,82 (OCH_3), 68,01 (C_3), 102,66 ($\text{C}_{2',6'}$), 107,81 (C_9), 118,28 (C_7), 130,30 (C_6), 170,57 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.8. Síntesis de *cis*-1-[8-Metoxi-3-(3',4',5'-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-yl]-etanona (**41d**)



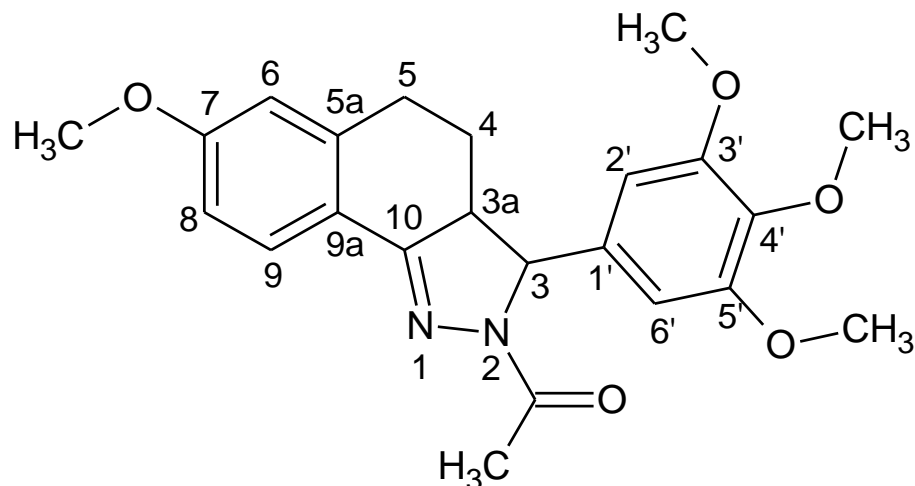
Sólido beige. Rendimiento 38%. Pf: 183-184 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2919-2847 (CH_2), 1661 ($\text{C}=\text{O}$), 1591-1500 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,68-1,81 (m, 2H, H_4), 2,45 (s, 3H, CH_3), 2,78 (m, 2H, H_5), 3,45-3,55 (m, 1H, H_{3a}), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 3,76 (s, 3H, OCH_3), 3,77 (s, 3H, OCH_3), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 5,59 (d, 1H, H_3 , $J=11,12$ Hz), 6,24 (s, 2H, $\text{H}_{2,6'}$), 6,91 (dd, 1H, H_7 , $J_{\text{H}_7,\text{H}_9}=2,72\text{Hz}$, $J_{\text{H}_7,\text{H}_6}=11,12\text{Hz}$), 7,07 (d, 1H, H_6 , $J=8,64$ Hz), 7,50 (d, 1H, H_9 , $J=2,48$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 21,82 (CH_3), 24,18 (C_4), 28,71 (C_5), 48,76 (C_{3a}), 55,54 (OCH_3), 56,24 (2 OCH_3), 60,74 (OCH_3), 63,51 (C_3), 103,55 ($\text{C}_{2', 6'}$), 108,09 (C_9), 118,41 (C_7), 130,14 (C_6), 168,66 ($\text{C}=\text{O}$).

5.1.9. Síntesis de *trans*-1-[7-Metoxi-3-(3',4',5'-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (**41e**).



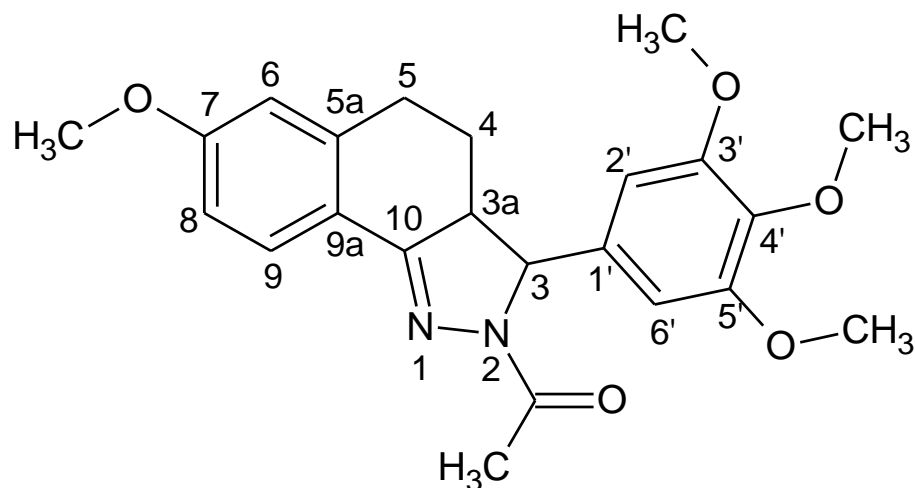
Sólido beige. Rendimiento 47%. Pf: 180-182 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2941-2836 (CH_2), 1661 ($\text{C}=\text{O}$), 1604-1505 (CH-Ar).

RMN¹H, 270MHz, CDCl₃ δ : 1,89-2,01 (m, 2H, H₄), 2,40 (s, 3H, CH₃), 2,89-2,94 (m, 2H, H₅), 3,12-3,23 (m, 1H, H_{3a}), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 4,78 (d, 1H, H₃, J=9,66 Hz), 6,48(s, 2H, H_{2',6'}), 6,67 (d, 1H, H₆, J=2,21Hz), 6,81 (dd, 1H, H₈, J_{H8,H6} = 2,72 Hz, J_{H8,H9} = 11,36 Hz), 7,88 (d, 1H, H₉, J=8,66Hz).

RMN¹³C, 270MHz, CDCl₃ δ : 22,94 (CH₃), 28,04 (C₄), 29,74 (C₅), 55,39 (OCH₃), 56,00 (C_{3a}), 56,25 (2 OCH₃), 60,77 (OCH₃), 67,78 (C₃), 102,90 (C_{2', 6'}), 113,42 (C₆), 113,67 (C₈), 126,54 (C₉), 161,47 (C=O).

5.1.10. Síntesis de *cis*-1-[7-Metoxi-3-(3',4',5'-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona (**41e**)



Sólido beige. Rendimiento 33%. Pf: 183-184 °C.

IR (KBr) Cm^{-1} : 2937 (CH_2), 1652 ($\text{C}=\text{O}$), 1605,7-1505 (CH-Ar).

RMN^1H , 270MHz, CDCl_3 δ : 1,76-1,82 (m, 2H, H_4), 2,42 (s, 3H, CH_3), 2,75-2,88 (m, 2H, H_5), 3,44-3,55 (m, 1H, H_{3a}), 3,73 (s, 3H, OCH_3), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 3,79 (s, 3H, OCH_3), 4,57 (d, 1H, H_3 , $J=10,88$ Hz), 6,24 (s, 2H, $\text{H}_{2',6'}$), 6,63 (d, 1H, H_6 , $J=2,24$ Hz), 6,79 (dd, 1H, H_8 , $J_{\text{H}_8,\text{H}_6} = 2,21$ Hz, $J_{\text{H}_8,\text{H}_9} = 9,88$ Hz), 7,95 (d, 1H, H_9 , $J=9,47$ Hz).

RMN^{13}C , 270MHz, CDCl_3 δ : 21,78 (CH_3), 23,95(C_4), 29,84 (C_5), 48,87 (C_{3a}), 55,37 (OCH_3), 56,20 (2 OCH_3), 60,74 (OCH_3), 63,19 (C_3), 103,45 ($\text{C}_{2',6'}$), 113,13 (C_6), 113,75 (C_8), 126,83 (C_9), 168,36 ($\text{C}=\text{O}$).

5.2. Procedimiento general para la evaluación de la potencial actividad antimalárica in vitro.

Las pruebas biológicas fueron realizadas mediante el ensayo de inhibición de la formación de β -hematina (IF β H), en la Unidad de Bioquímica de La Facultad de Farmacia de La Universidad Central de Venezuela.

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

La formación de la β -hematina se inició mediante la adición de buffer fosfato (100 μ L, 0,2 M, pH 4,4) a cada uno de los pozos. Las microplacas se incubaron a 37 °C por 48 horas para permitir la completa reacción, se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min en una centrífuga (IEC-CENTRA, MP4R), se descartó el sobrenadante (hemina no cristalizada), mediante inversión de la placa y el sedimento (β -hematina formada), se lavó dos veces con DMSO (200 μ L) para eliminar totalmente la hemina libre. Finalmente, se disolvió con hidróxido de sodio (200 μ L, 0,2 N) para hidrolizar la β -hematina a hemina. En otra placa, se diluyen los agregados solubilizados 1:2 con hidróxido de sodio (0,1 N) y se les determinó la absorbancia a 405 nm en un lector de placas (Microplate Reader, BIORAD-550). Se utilizó la CQ como control de actividad conocida. El resultado se expresó como porcentaje de inhibición de la formación de β -hematina.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Sección química

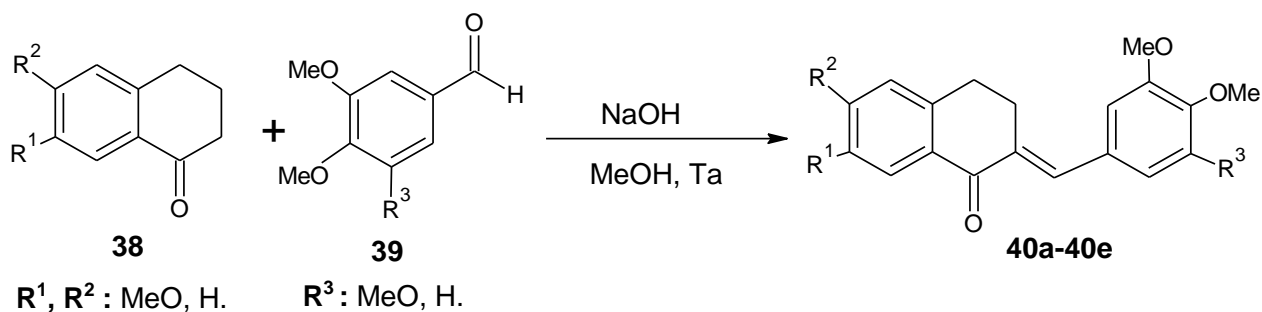
La estrategia diseñada para la síntesis total de los derivados planteados **41a-41e**, involucró un proceso de dos pasos sintéticos para obtener la mezcla diastereoisomérica de los mismos, esto permitió obtener mezclas de compuestos (*cis* y *trans*), que al separarlos por cromatografía en columna dio como resultado 10 compuestos finales; en el diseño de estos derivados se incorporó uno o varios grupos metoxi, sobre la base de que este grupo funcional proporciona altas propiedades electrónicas-lipofílicas, además, de simular la estructura del ácido gálico que está presente en un gran número de compuestos orgánicos de uso clínico, que presentan diversas actividades biológicas, entre ellas antimalárica, todo esto de acuerdo con los reportes encontrados en la literatura.^{30,31}

Cabe destacar además, que la formación de un anillo 4,5-dihidropirazol (Δ^2 -pirazolina), es de suma importancia debido a que las pirazolinas son compuestos que poseen un alto rango de actividades biológicas, entre ellas antimicrobiana, antiinflamatoria, anticancerosa, analgésica y antimalárica.¹⁸ Otro aspecto importante es la rigidez de los compuestos **41a-41e**, aportada a través de la formación del anillo 4,5-dihidropirazol (Δ^2 -pirazolina), que genera mayor rigidez a las moléculas sintetizadas, simulando estructuras policíclicas rígidas como la doxiciclina, lumefantrina y halofantrina, que actualmente son empleadas como antimaláricos de uso clínico.

El diseño total de todos los compuestos sintetizados se realizó con la intención de aportar a la búsqueda de nuevos compuestos activos contra la malaria, además de que puedan actuar como profármacos, herramienta eficaz, altamente utilizada en

Química Medicinal para aumentar la potencia de los fármacos y superar inconvenientes asociados a la formulación y administración de los mismos.

6.1.1. Síntesis de los intermediarios de (*E*)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(2*H*)-ona (**40a-40e**).



La síntesis de los intermediarios **40a-40e** se llevó a cabo mediante la reacción de condensación de Claisen-Schmidt que es un tipo de condensación aldólica, que se fundamenta en la síntesis de cetonas α,β -insaturadas por condensación de un aldehído aromático con una cetona. Como el aldehído aromático no posee hidrógenos en posición α respecto al grupo carbonilo, no puede dar auto condensación, pero reacciona fácilmente con la cetona presente. El aducto inicial de aldolización no puede ser aislado ya que se deshidrata espontáneamente bajo las condiciones de reacción.²⁴

En este caso el mecanismo de la condensación Claisen-Schmidt entre las α -tetralonas **38** y los aldehídos sustituidos **39** en presencia de hidróxido de sodio se inicia con la reacción ácido-base entre la α -tetralona y el anión hidróxido, lo que genera un equilibrio en el que está presente el ión enolato. En el segundo paso del mecanismo, el ión enolato ataca nucleofílicamente al aldehído para formar una β -alcoxicetona que, por reacción ácido-base con las moléculas del disolvente, genera el aldol. Las

chalconas α,β -insaturadas **40a-40e**, se obtienen a través de un aducto inicial de aldolización, que no pudo ser aislado debido a que deshidrata espontáneamente, bajo el mecanismo de eliminación unimolecular de la base conjugada (E1cB).²⁴ El mecanismo propuesto se puede apreciar en la figura 12.

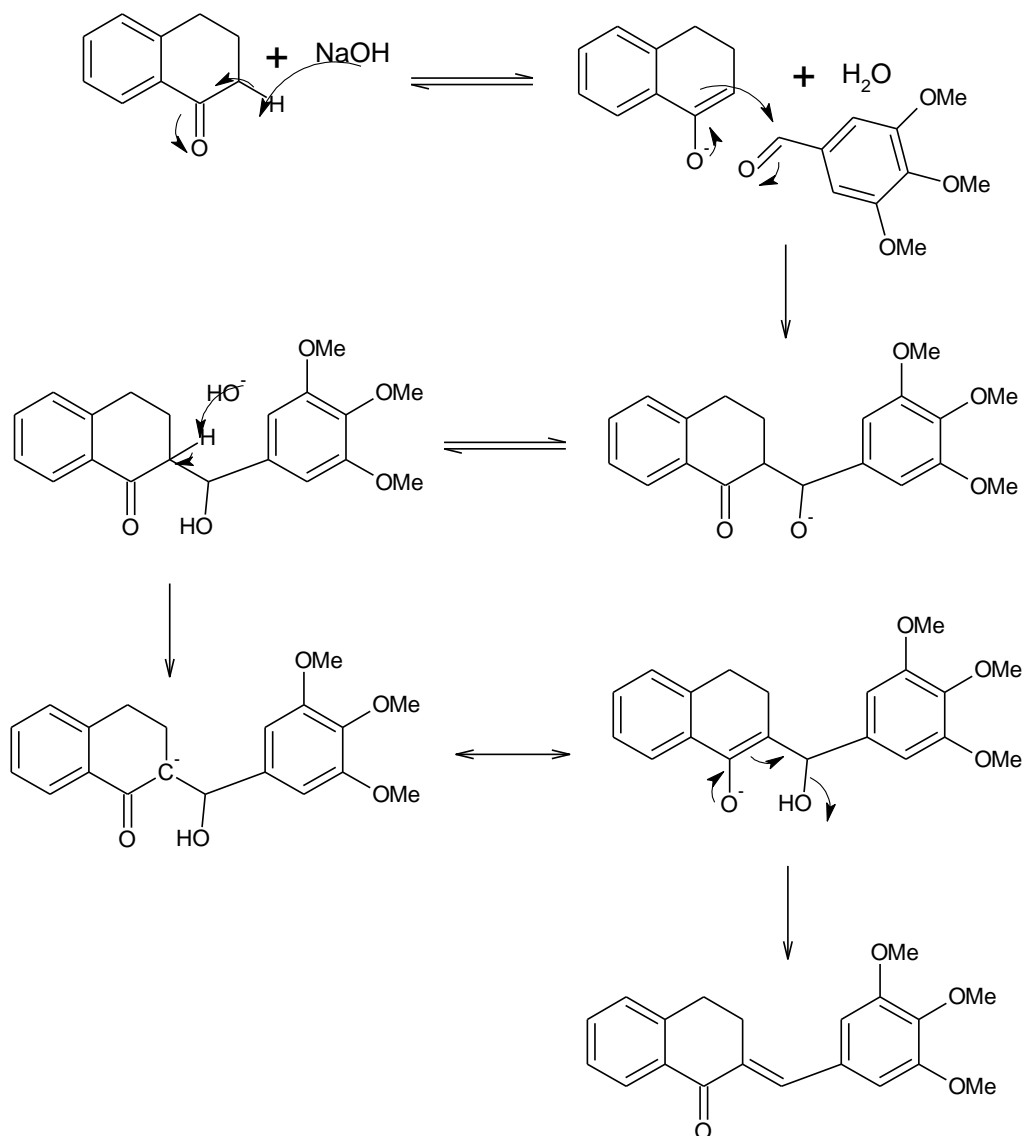


Figura 12. Mecanismo de condensación Claisen-Schmidt

En este caso se obtuvo 5 intermediarios **40a-40e**, todos como sólidos amarillos, recristalizados con una mezcla de solventes etanol-agua, obteniendo rendimientos entre 95%-98%, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2. Porcentajes de rendimiento y características físicas de los compuestos 40a-40e

Compuesto	Punto de fusión (°C)	% Rendimiento	Color
40a	128-130	98	Amarillo
40b	126-128	98	Amarillo
40c	124-126	95	Amarillo
40d	129-130	96	Amarillo
40e	125-126	98	Amarillo

Las estructuras de los derivados **40a-40e** fueron establecidas de manera inequívoca mediante el análisis de los espectros IR, RMN¹H y RMN¹³C.

Para la discusión espectroscópica de la serie se seleccionó como modelo el compuesto 6-Metoxi-2-(3,4,5-trimetoxi-bencliden)-3,4-dihidro-2H-naftalen-1-ona (**40e**), el resto de las estructuras presenta señales características en cada espectro, que depende del patrón de sustitución.

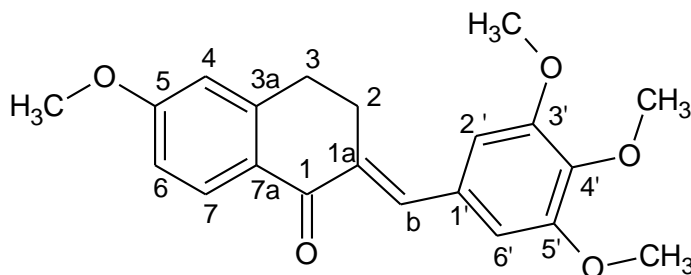
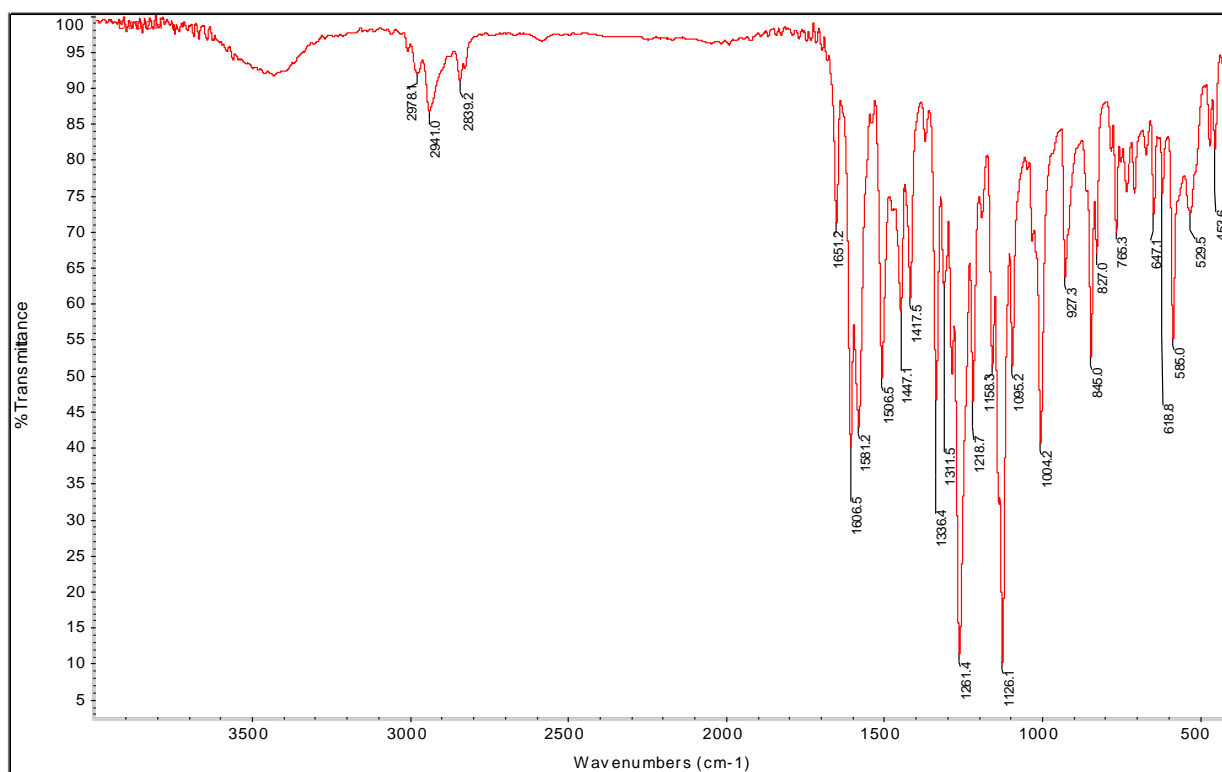


Figura 13. Estructura general y numeración de compuesto **40e**.

En el análisis del espectro IR del compuesto **40e** (espectro 1), se observan las bandas entre 1606 y 1506cm^{-1} , características de la tensión -C=C- de los compuestos aromáticos derivados de benceno. En 1651cm^{-1} se observa la banda característica del estiramiento C=O α,β -insaturado y por último en el intervalo 2941 - 2839cm^{-1} , se observan las bandas características de la tensión simétrica y asimétrica de los metilenos presentes en la molécula. Se pueden identificar otras bandas que carecen de importancia práctica.



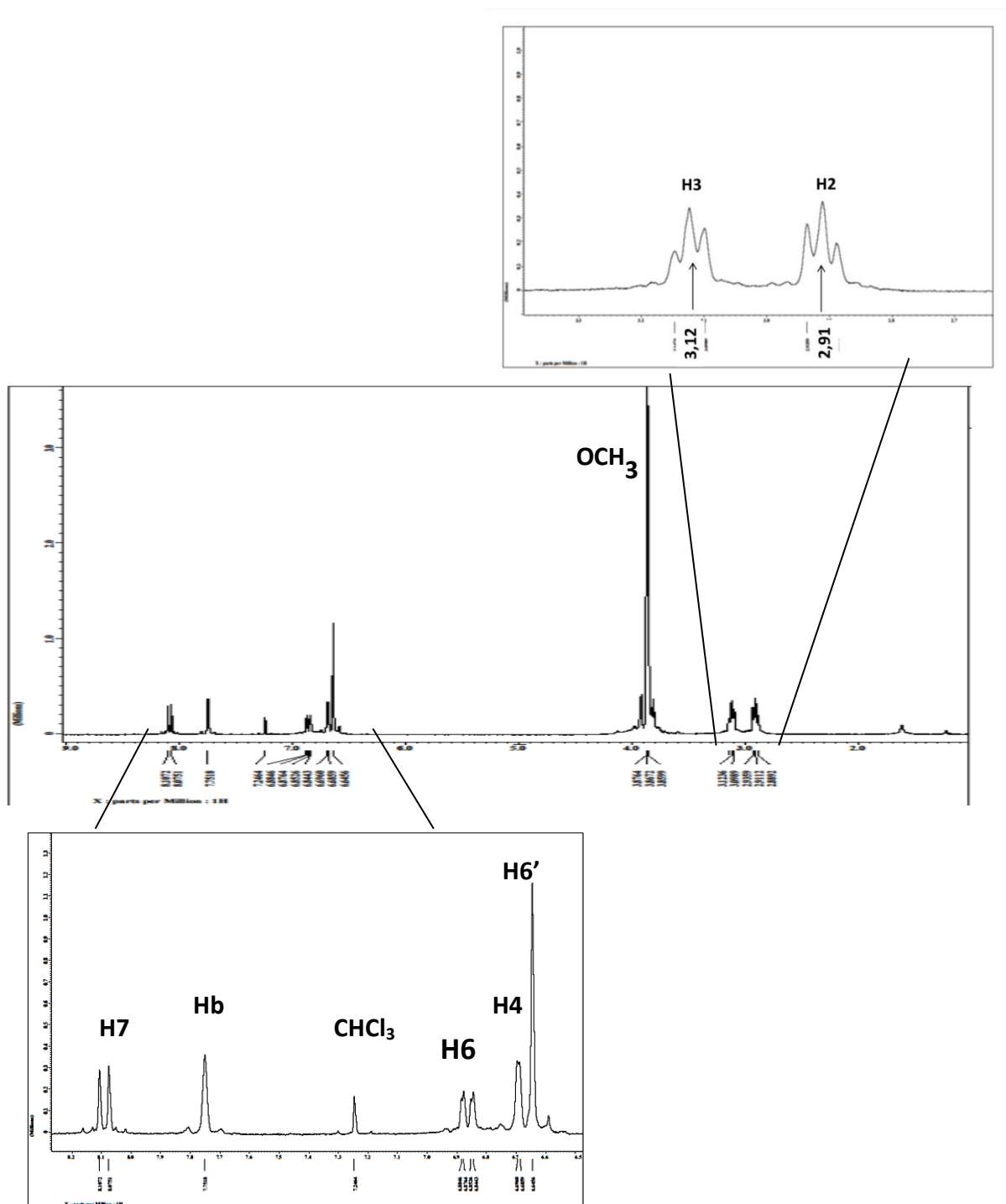
Espectro 1. Espectro IR de compuesto **40e**.

En el espectro RMN^1H , (CDCl_3 , 270 MHz) (espectro 2), se identifican las siguientes señales. Comenzando a campo alto; se observa un triplete a 2,91 ppm, que integra para dos protones con $J_{\text{H}_2\text{-H}_3} = 6,66\text{ Hz}$, estos protones están acoplados con los

protones H_3 , que su vez aparece como un triplete a 3,12 ppm con $J_{H_3-H_2}=6,42$ Hz. Seguidamente se evidencian los protones correspondientes a los grupos metoxi presentes en la molécula, cada señal se observa como un singlete que integra para tres protones cada uno a 3,85 ppm, 3,86 ppm, 3,86 ppm y 3,87 ppm.

A 6,64 ppm, se observa un singlete que integra para dos protones, asignado a los protones químicamente equivalentes $H_{2'}$ y $H_{6'}$. Seguidamente a 6,69 ppm, se observa un doblete que integra para un protón, asignada al protón H_4 , con una constante de acoplamiento orto $J_{H_4-H_6}=2,24$ Hz. En 6,87 ppm, se observa un doblete de doblete asignado al protón H_6 , con constantes de acoplamiento meta y orto $J_{H_6,H_4}= 2,21$ Hz, $J_{H_6,H_7} = 10,88$ Hz respectivamente.

En 7,75 ppm, se observa un singlete que integra para un protón, asignado a H_b , este protón aparece a campo bajo debido al efecto de resonancia ejercido por la conjugación del sistema α,β -insaturado. Por último en 8,07 ppm se observa un doblete que integra para un protón, perteneciente al protón H_7 , con una constante de acoplamiento orto $J_{H_7-H_6}= 8,66$ Hz.

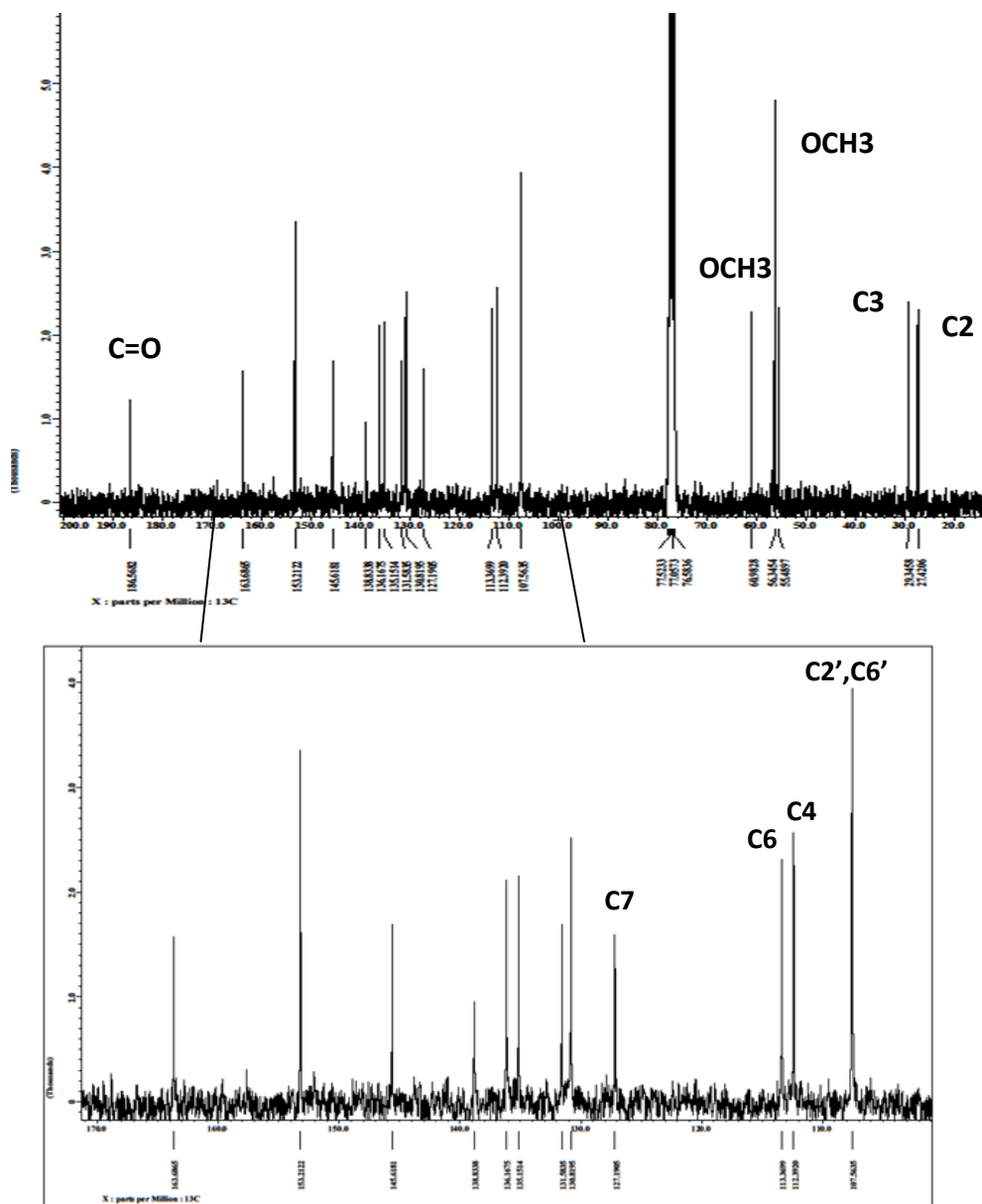


Espectro 2. Espectro RMN^1H de **40e** y su ampliación

En lo respecta al espectro de RMN¹³C, (CDCl₃) (espectro 3), se observan las señales características de los 21 carbonos de la estructura **40e**. A campo alto se observa a 27,42 ppm la señal correspondiente C₂, seguidamente C₃ en 29,34 ppm. Las señales asignadas a los carbonos de los grupos metoxi, se observan a 55,48 ppm, 56,34 ppm y 60,98 ppm.

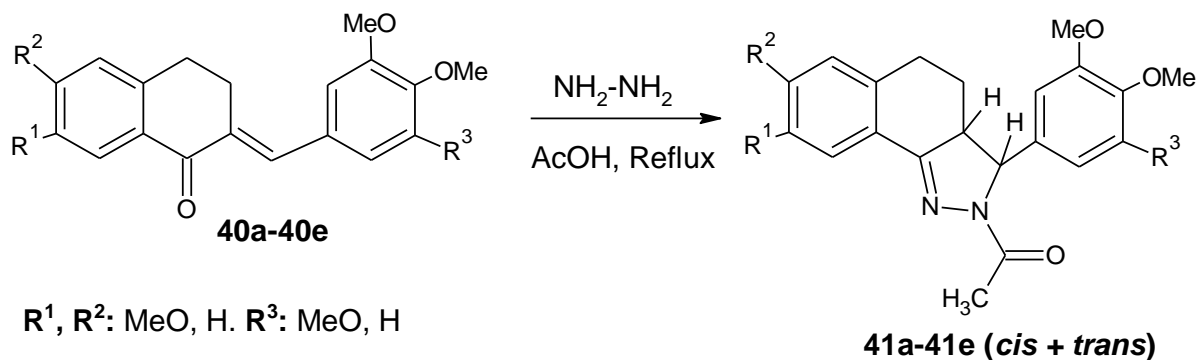
Dentro de las señales localizadas en la zona aromática se pudo identificar los siguientes carbonos; C_{2'} y C_{7'} que son químicamente equivalentes (107,56 ppm), C₄ (112,39), C₆ (113,6) y C₇ (127,19).

Por último, a campo bajo se asignó la señal correspondiente al carbono carbonílico (C=O), en 186,56ppm.



Espectro 3. Espectro RMN¹³C de **40e** y su ampliación

6.1.2. *síntesis de derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazoles (41a-41e).*



La síntesis de los compuestos finales **41a-41e**, procede mediante una reacción de ciclo-condensación de los derivados **40a-40e** con hidrazina monohidratada y ácido acético bajo condiciones de reflujo. El mecanismo detallado de reacción involucra el ataque del nitrógeno de la hidrazina al doble enlace carbono-carbono de la posición β , con un subsecuente ataque nucleofílico del otro átomo de nitrógeno de la hidrazina sobre el carbono carbonílico en posición α , formándose entonces un anillo 4,5-dihidropirazol; como se utiliza ácido acético como medio de reacción en exceso, el par de electrones disponible sobre el átomo de nitrógeno en el anillo 4,5-dihidropirazol ataca nucleofílicamente al carbono carboxílico presente en la molécula del ácido acético, generando entonces los derivados acilados.²⁴

El mecanismo propuesto para la reacción se describe en la figura 14.

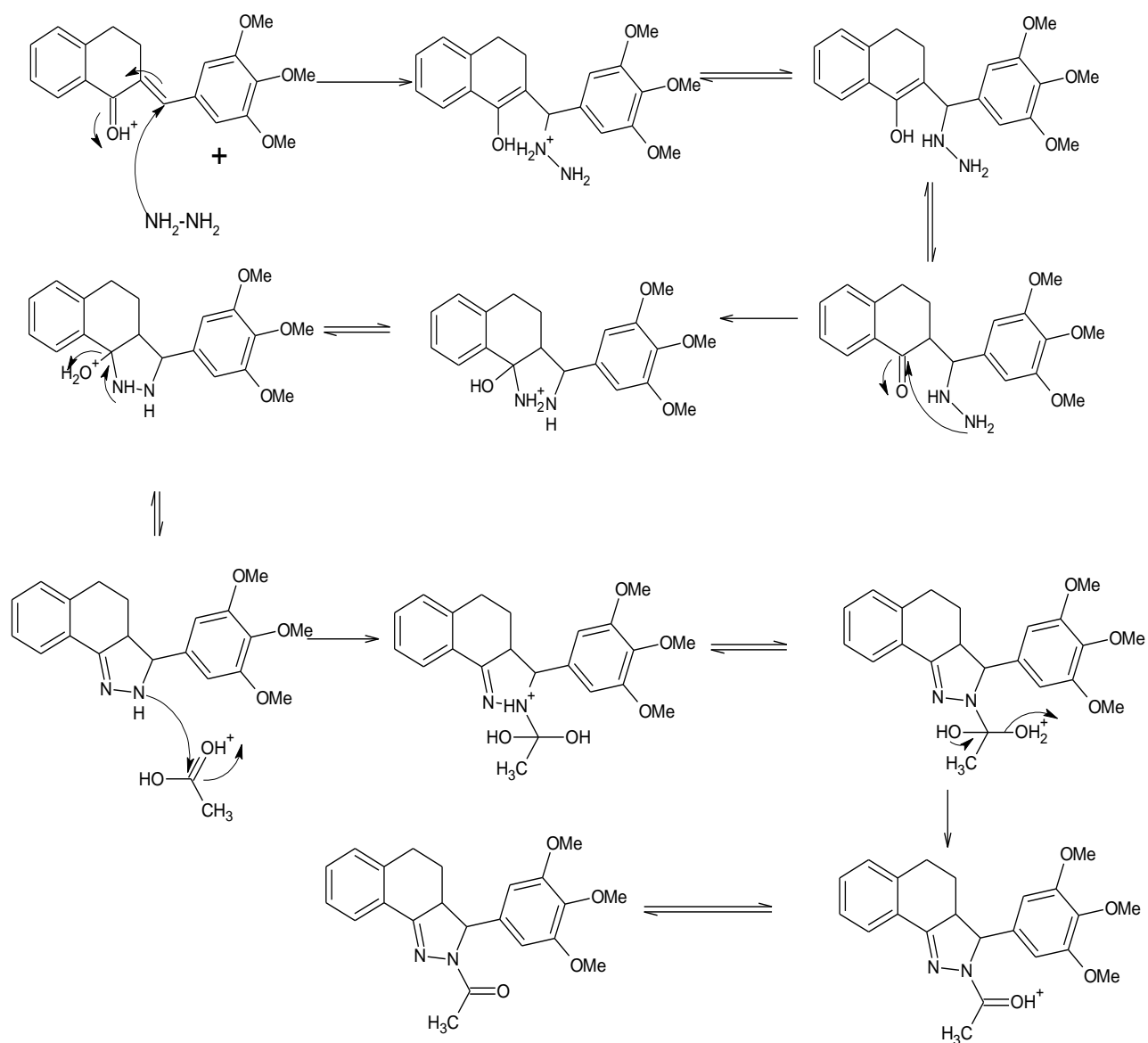


Figura 14. Mecanismo para la síntesis de **41a-41e**

Otro punto a tratar sobre esta reacción viene del hecho de que es realizada en exceso de ácido acético, lo que proporciona al medio un exceso de protones, generando la isomerización sobre los centros quirales de la molécula, como resultado se obtiene una mezcla de diastereoisómeros *cis* y *trans* de los compuesto **41a-41e**.

El mecanismo de esta isomerización involucra un equilibrio tautomérico catalizado por los protones generados por el ácido acético.²⁹

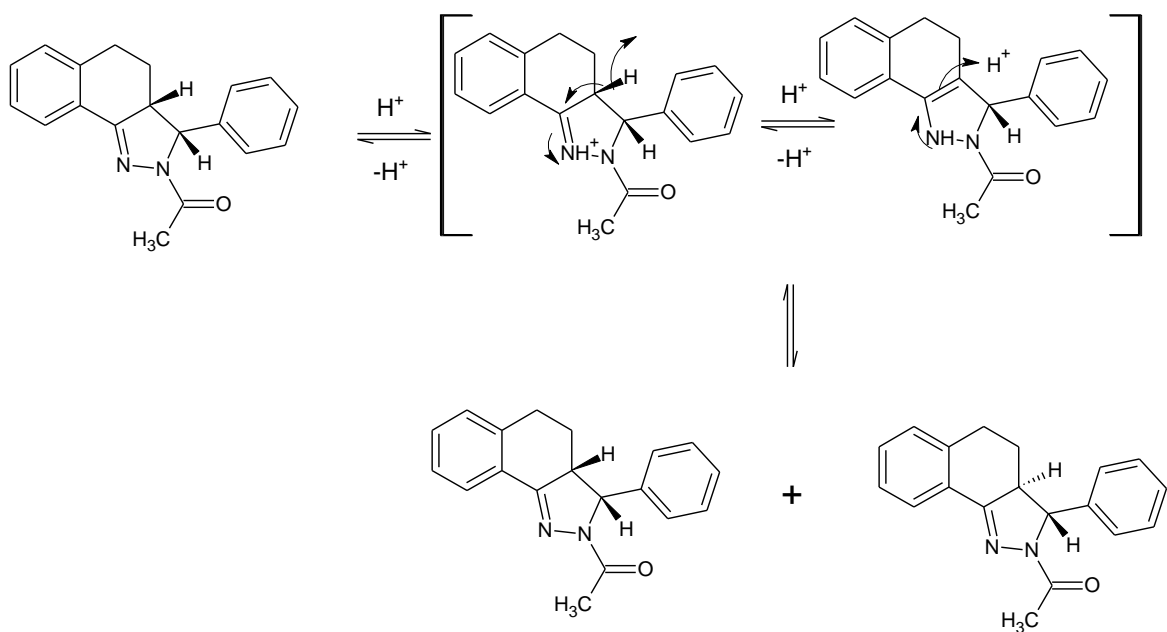


Figura 15. Mecanismo de isomerización de los compuestos **41a-41e**

En este caso se obtuvo 5 mezclas diastereoisoméricas **41a-41e**, todos como sólidos amarillos o beige con rendimientos entre 90%-95%, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 3. Porcentajes de rendimiento de la mezcla de compuestos **41a-41e**

Compuesto (mezcla)	% Rendimiento	Color
41^a	94	Amarillo
41^b	92	Amarillo
41^c	95	Beige
41^d	90	Amarillo
41^e	93	Amarillo

La separación de la mezcla diastereoisomérica se llevó a cabo mediante cromatografía en columna, empleando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de hexano-cloroformo-isopropanol, la determinación de la fase móvil ideal para llevar a cabo la separación de cada mezcla se realizó por medio de un análisis de cromatografía en capa fina (CCF).

Las fases móviles utilizadas para la separación abarcaron mezclas de solventes (hexano 70%-cloroformo 29%-isopropanol 1%) y (hexano 70%-cloroformo 29,5%-isopropanol 0,5%), ver tabla 1.

Para la discusión espectroscópica de la serie se seleccionó como modelo el compuesto 1-[7-Metoxi-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]indazol-2-il]-etanona **41e**, el resto de las estructuras presenta señales características en cada espectro, que depende del patrón de sustitución y el isómero respectivo.

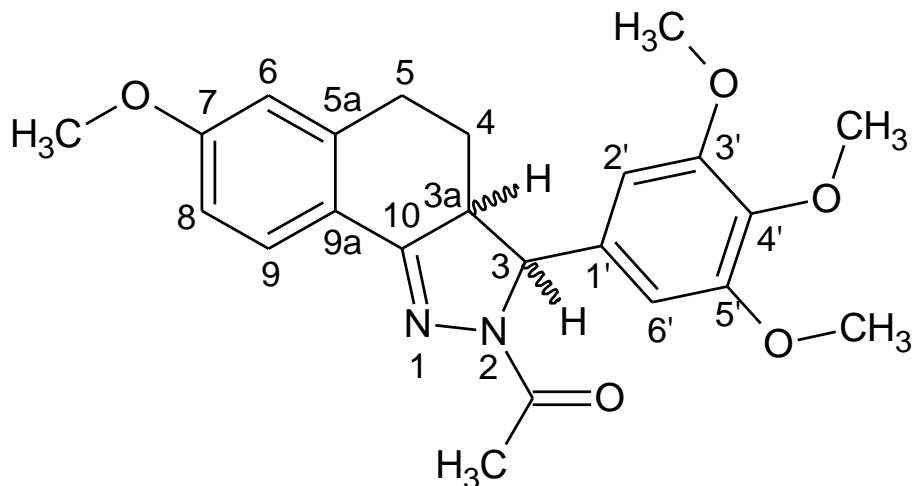
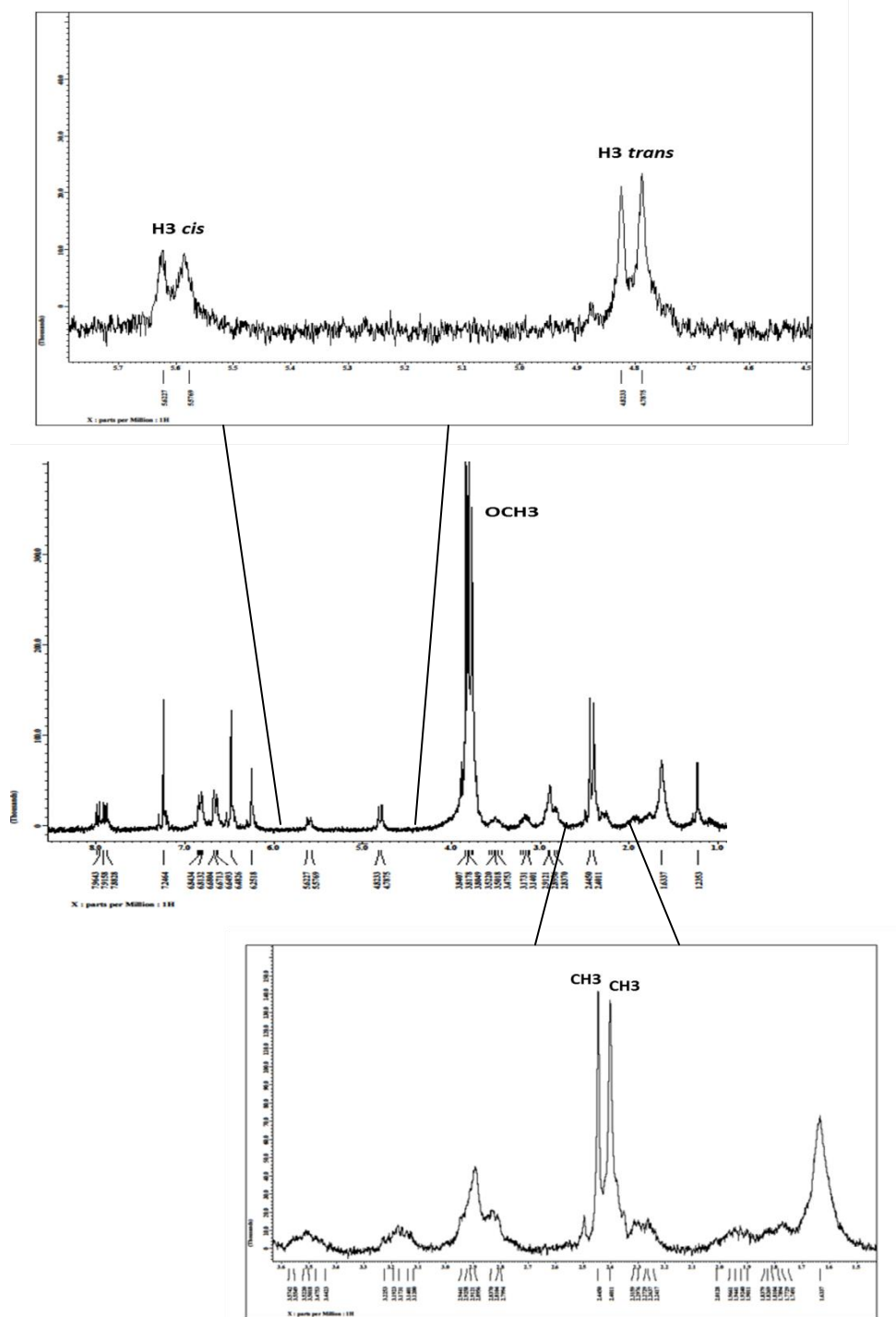


Figura 16. Estructura química del compuesto **41e**.

Como lo describe el espectro 4 de protones (RMN¹H CDCl₃, 270 MHz), de la mezcla diastereoisomérica **41e**, se puede observar a campo alto señales duplicadas para los metilos (CH₃) alrededor de 2.40 ppm, asignados al acetilo en la molécula. Entre 3,76 y 3,84 ppm se observan las señales de los singletes asignados a los grupos metoxi que aparecen duplicadas; también se puede observar un doblete en 4,78 ppm que integra para un protón con una $J_{3-3a}=9,66$ Hz que se atribuye al protón *trans*-H₃, seguidamente a 5,62 ppm se observa un doblete que integra para el protón *cis*-H₃ con $J_{3-3a}=11,64$ Hz. Por último en la zona aromática también se puede observar que todas las señales de los protones aparecen duplicadas, dando constancia entonces de que la reacción fue diastereoselectiva, lo que nos indica que estamos en presencia de una mezcla cruda de la reacción constituida por diastereoisómeros *cis-trans*.



Espectro 4. Espectro RMN ^1H de la mezcla **41e** y su ampliación.

Una vez separada la mezcla de diastereoisómeros por cromatografía en columna, se obtuvo 10 compuestos finales *cis-trans* **41a-41e**, todos como sólidos beige, con rendimientos superiores al 29%, como se muestra en la siguiente tabla 4.

Tabla 4. Rendimiento y propiedades físicas de los compuestos *cis-trans* **41a-41e**.

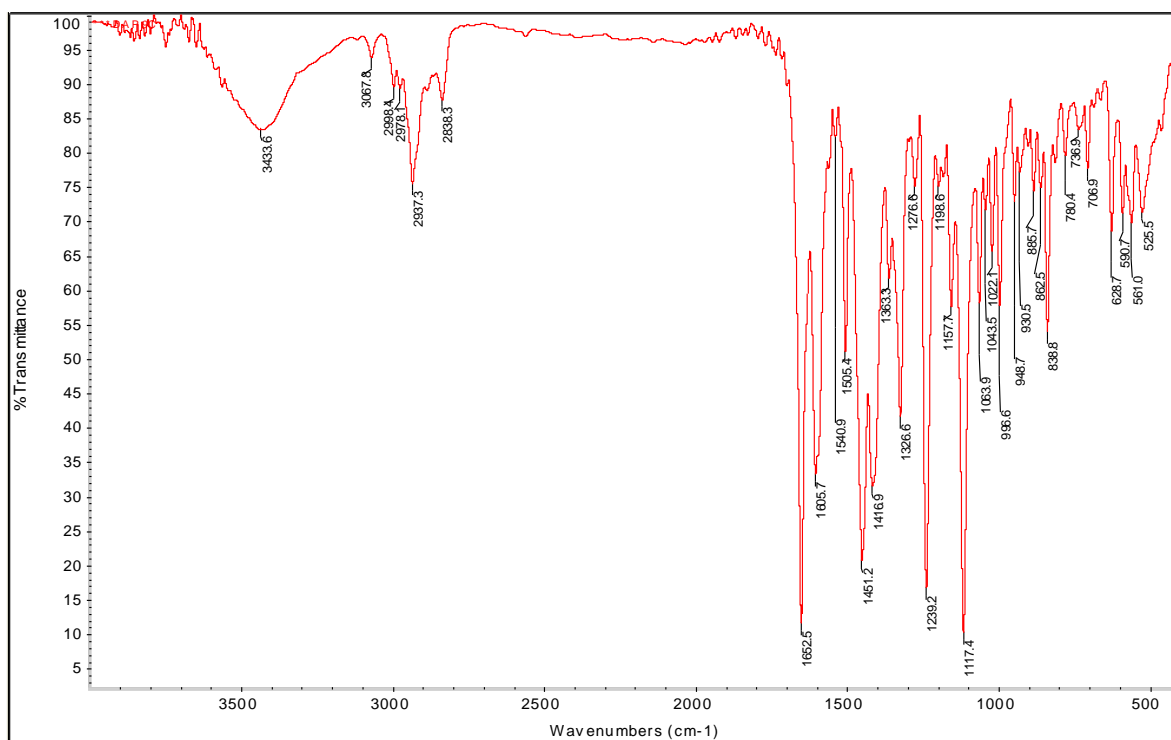
Compuesto	Punto de fusión (°C)	% Rendimiento	Color
<i>cis-41a</i>	182-183	31	Beige
<i>trans-41a</i>	183-184	33	Beige
<i>cis-41b</i>	172-174	29	Beige
<i>trans-41b</i>	174-176	48	Beige
<i>cis-41c</i>	170-172	38	Beige
<i>trans-41c</i>	176-177	43	Beige
<i>cis-41d</i>	183-184	38	Beige
<i>trans-41d</i>	186-187	48	Beige
<i>cis-41e</i>	183-184	33	Beige
<i>trans-41e</i>	180-182	47	Beige

Fueron establecidas las estructuras de los compuestos **41a-41e** de manera inequívoca mediante el análisis de los espectros IR, RMN¹H en una y dos dimensiones, RMN¹³C y experimentos HETCOR.

Para la discusión espectroscópica de la serie se seleccionaron los compuestos **cis-41e** y **trans-41e**, para continuar con la misma secuencia discutida en la mezcla diastereoisomérica.

Se comienza discutiendo el compuesto ***cis-41e***.

En el análisis del espectro IR del compuesto **cis-41e** (espectro 5), se observan las bandas entre 1606 y 1505cm^{-1} , características de la Tensión -C=C- de los compuestos aromáticos derivados de benceno. En 1652cm^{-1} se observa la banda característica del estiramiento C=O del carbono carboxílico y por último en el intervalo $2937\text{-}2838\text{ cm}^{-1}$, se observan las bandas características de la tensión simétrica y asimétrica de los metilenos presentes en la molécula. Se pueden identificar otras bandas que carecen de importancia práctica.



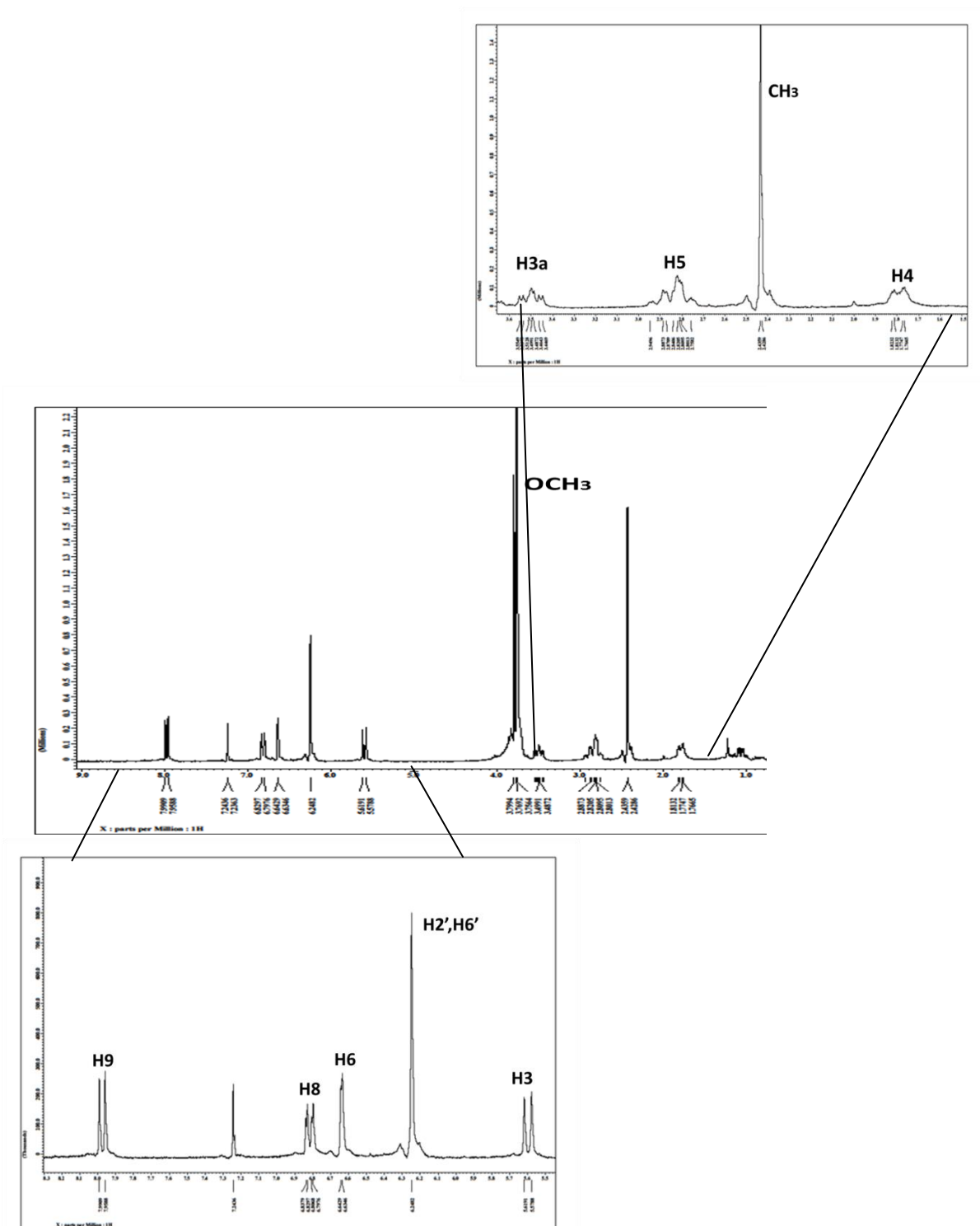
Espectro 5. Espectro IR del compuesto **cis-41e**

En el espectro RMN^1H , (CDCl_3 , 270 MHz) (espectro 6), se identificaron las siguientes señales comenzando a campo alto; se observa un multiplete entre 1,76 ppm y 1,81 ppm que integra para dos protones y es atribuido al protón H_4 . A 2,42 ppm se

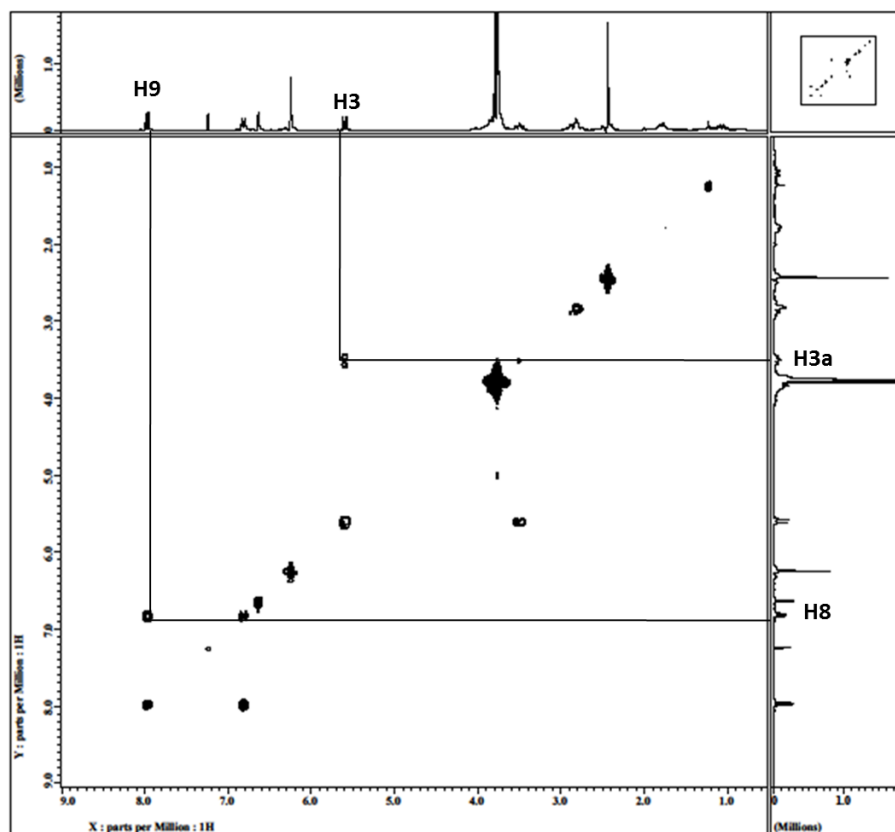
observa un singlete que integra para tres protones que fue asignado al metilo (CH_3) localizado en el carbono carboxílico. Entre 2,80 ppm y 2,88 ppm se observa un multiplete que integra para dos protones asignado a H_5 . Se observa un multiplete entre 3,44 ppm y 3,53 ppm que integra para un protón, asignado al protón H_{3a} . Seguidamente se observan los protones pertenecientes a los grupos metoxi en la molécula, cada señal se observa como singlete que integra para tres protones cada uno en 3,73 ppm, 3,74 ppm, 3,75 ppm y 3,79 ppm.

A 5,57 ppm se observa un doblete que integra para un protón que es asignado al protón H_3 con $J_{3-3a} = 10,88$ Hz, este protón está acoplado con la señal correspondiente del protón H_{3a} .

En la zona aromática se observan señales centradas a 6,24 ppm como un singlete que integra para dos protones atribuido a los protones equivalentes H_2 - H_6 . A 6,63 ppm se aparece un doblete que integra para un protón asignado a H_6 , con una constante de acoplamiento meta $J_{6-8} = 2,24$ Hz, acoplado con H_8 que es asignado al doblete de doblete encontrado en 6,79 ppm, con constantes de acoplamiento orto y meta $J_{8-9} = 9,88$ Hz y $J_{8-6} = 2,22$ Hz. Por último se evidencia un doblete en 7,95 ppm, que integra para un protón atribuido a H_9 con una constante de acoplamiento orto $J_{9-8} = 9,47$ Hz. Los acoplamientos de algunos de los protones se corroboraron con el experimento de correlación de desplazamiento homonuclear protón-protón (COSY) (espectro 7).



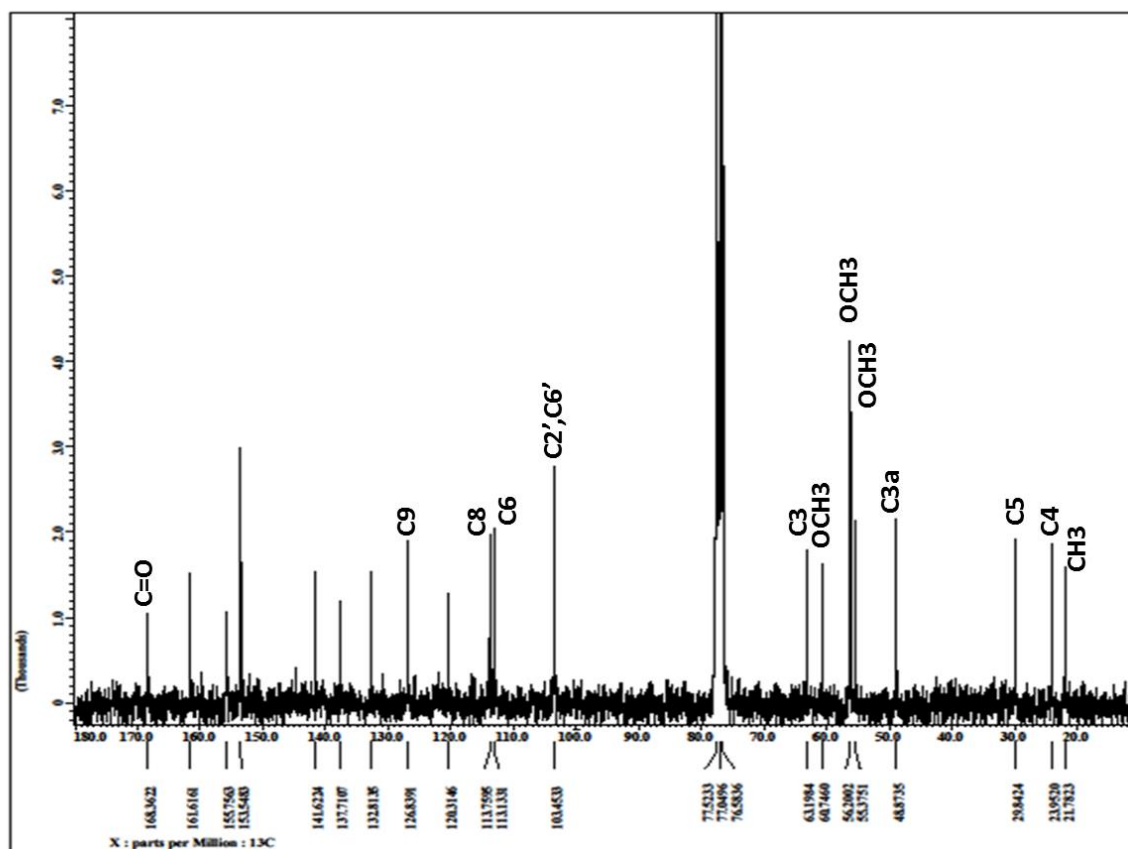
Espectro 6. Espectro RMN¹H del compuesto *cis-41e* y su ampliación.



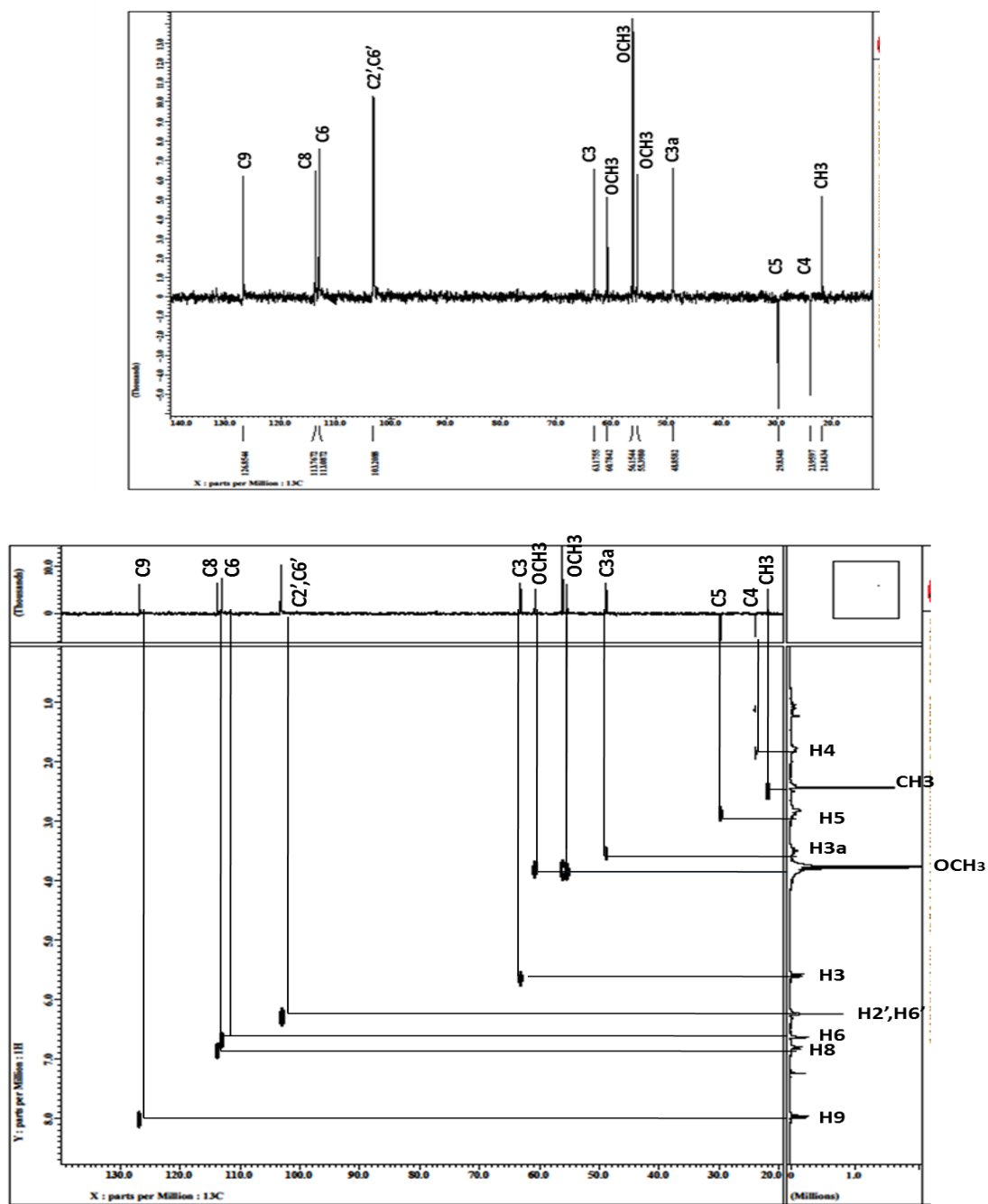
Espectro 7. Espectro COSY del compuesto **41e**.

En el espectro de RMN¹³C, (CDCl₃, 67,94 Hz) (espectro 8), se observan las señales características de los 23 carbonos de la estructura general de **cis-41e**. Se puede distinguir a campo bajo una señal en 168 ppm, asignada al carbono acílico presente en la molécula, además, con el espectro de intensificación sin distorsión por transferencia de polarización (DEPT, espectro 9), fue posible distinguir los carbonos metilenos C₄ y C₅ en 23 ppm y 29 pm respectivamente, puesto que en este caso aparecen como picos negativos.

Con ayuda del experimento en dos dimensiones de correlación heteronuclear protones-carbono (HETCOR, espectro 9), se identificaron inequívocamente los siguientes carbonos: CH₃ (21 ppm), C_{3a} (48 ppm), OCH₃ (55 ppm-60 ppm), C₃ (63 ppm), C_{2'} y C_{6'} (103 ppm), C₆ (113,13 ppm), C₈ (113,75 ppm) y C₉ (126 ppm).



Espectro 8. Espectro RMN¹³C del compuesto **cis-41e**



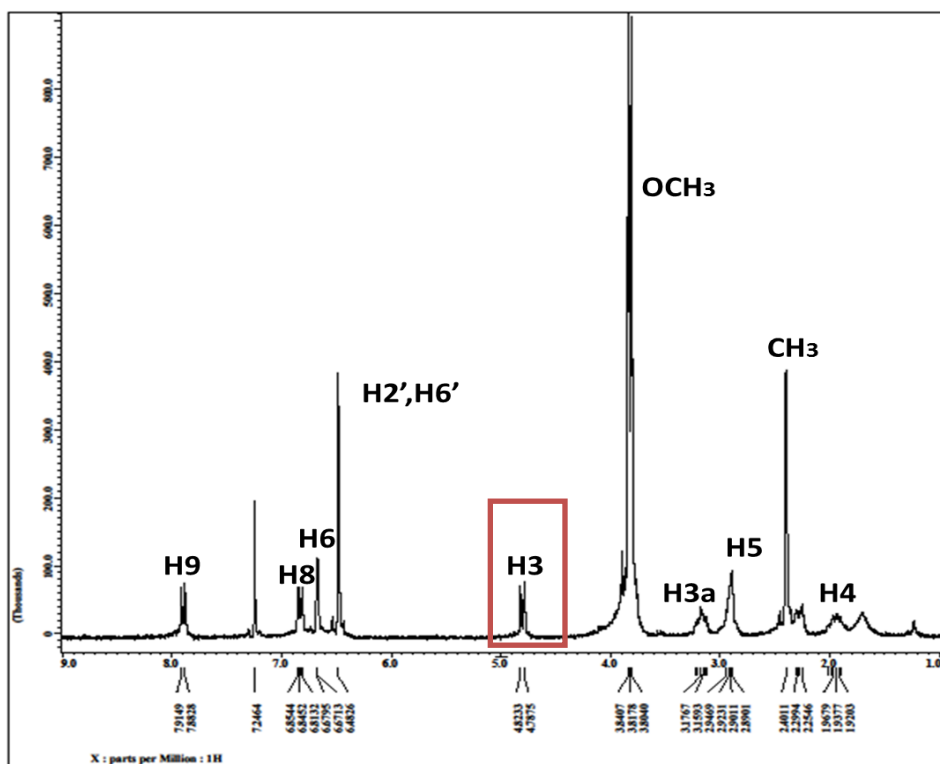
Espectro 9. Espectro DEPT y HETCOR del compuesto *cis-41e*.

Establecida inequívocamente la estructura del compuesto **cis-41e**, se procede a realizar un análisis comparativo con los espectros del compuesto **trans-4e**.

En el espectro RMN¹H, (CDCl₃, 270 MHz) (espectro 10), se identificaron las siguientes señales, comenzando a campo alto con un multiplete entre 1,89 ppm y 1,99 ppm, que integra para dos protones atribuido a los protones en H₄. A 2,40 ppm, se observa un singlete que integra para tres protones que es asignado al metilo (CH₃) localizado en el carbono carbonílico. Entre 2,89 ppm y 2,90 ppm se observa un multiplete que integra para dos protones asignado a los H₅. Se evidencia además, un multiplete entre 3,12 ppm y 3,21 ppm, que integra para un protón asignado a H_{3a}. Seguidamente se observan los protones pertenecientes a los grupos metoxi en la molécula, cada señal se observa como singlete integrando para tres protones cada uno en 3,73 ppm, 3,74 ppm, 3,75 ppm y 3,79 ppm. En general todas estas señales incluyendo las de la zona aromática son muy similares a las visualizadas en el compuesto **cis-41e**.

La diferencia más evidente, se observa con la aparición a 4,78 ppm, de un doblete que integra para un protón, que fue asignado a H₃ por el desdoblamiento con el protón H_{3a} con $J_{3-3a} = 9,39$ Hz. Con el valor de la constante de acoplamiento, se puede distinguir entonces entre compuestos diastereoisoméricos *cis* (**3R**, **3aR**); (**3S**, **3aS**) o *trans* (**3S**, **3aR**); (**3R**, **3aS**).

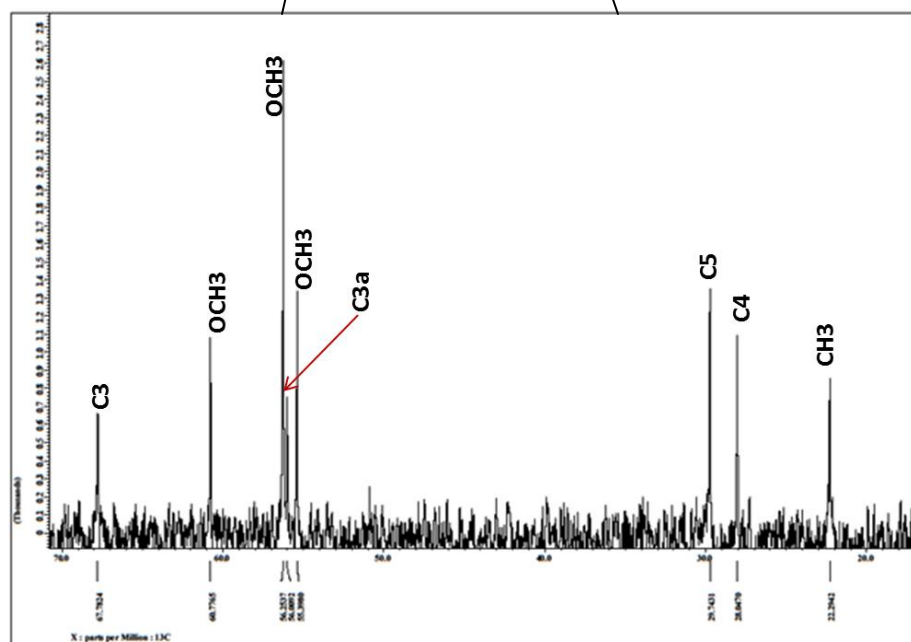
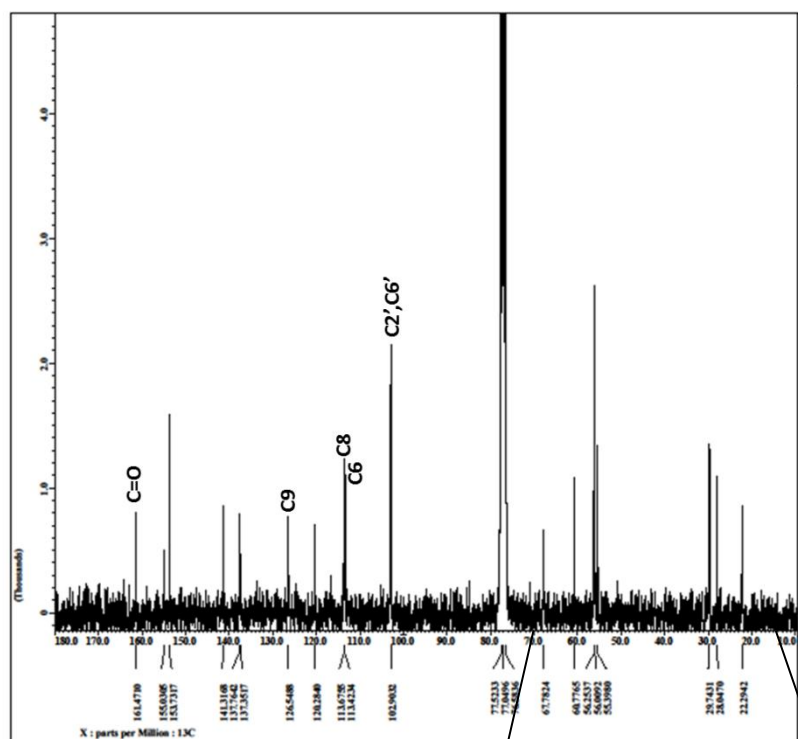
En este caso el valor de la constante $J_{3-3a} = 9,39$ Hz, se atribuye al compuesto *trans*.



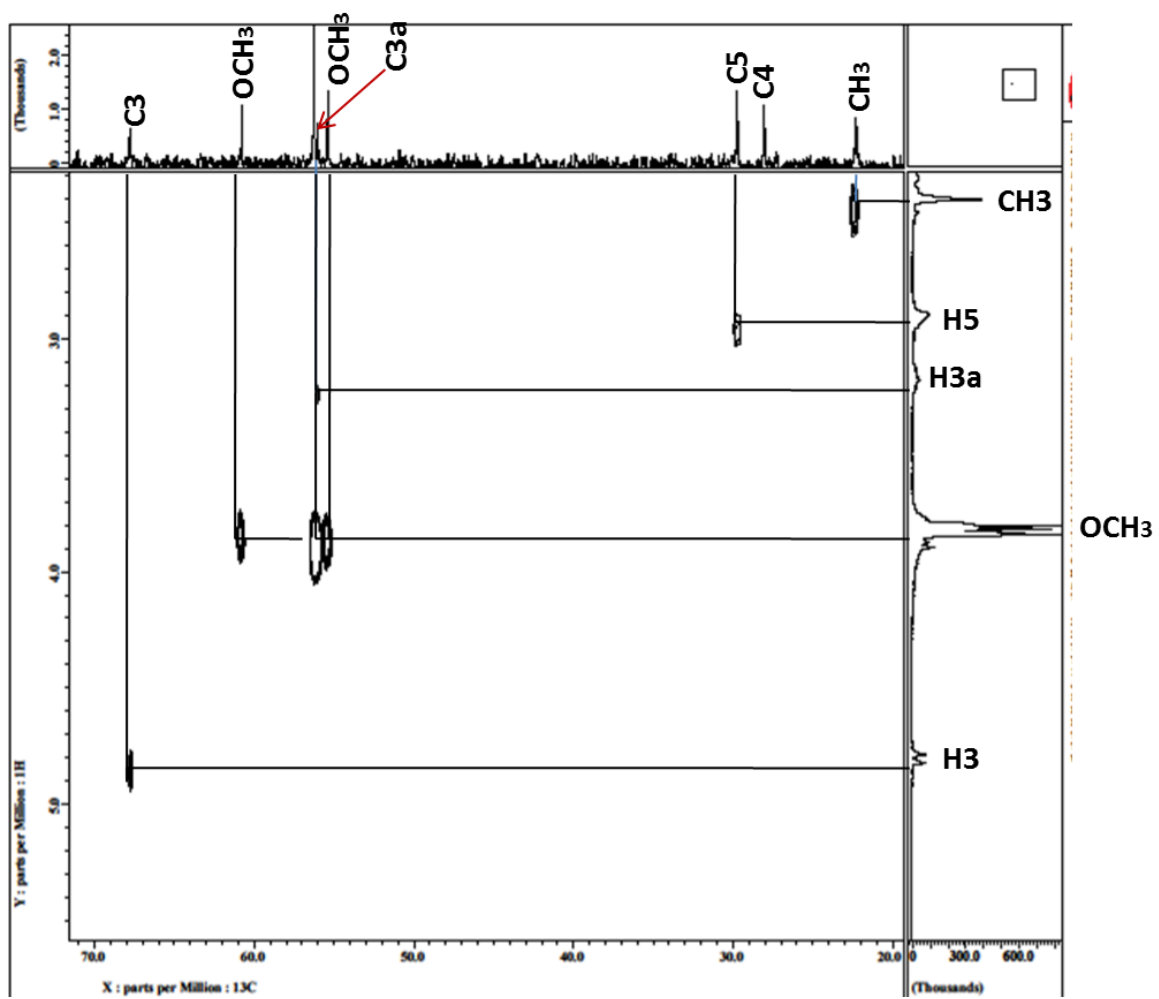
Espectro 10. Espectro RMN ^1H del compuesto ***trans* 41e** y su ampliación.

En el espectro de RMN ^{13}C , (CDCl_3 , 67,94 Hz) (espectro 11), se observan las señales características de los 23 carbonos de la estructura general de ***trans*-41e**. Todas las señales de estos carbonos aparecen a un desplazamiento muy similar a los del compuesto ***cis*-41e**, sin embargo, se puede observar varias diferencias significativas relacionadas con el desplazamiento de la señal asignada al carbono C_{3a} que en este caso isómero *trans*, aparece con un desplazamiento alrededor de 56 ppm, mientras que para el compuesto *cis* aparece alrededor de 49 ppm.

Con ayuda del experimento en dos dimensiones de correlación heteronuclear protón-carbono (HETCOR, espectro 12), se identificaron inequívocamente el resto de los carbonos de manera muy similar al compuesto cis.



Espectro 11. Espectro RMN¹³C de *trans*-41e y su ampliación



Espectro 12. Espectro HETCOR del compuesto **trans-41e**.

6.2. Sección Biológica

6.2.1. *Actividad Antimalárica*

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

Los protozoos del género *Plasmodium*, en su fase eritrocítica hidrolizan la fracción proteica de la hemoglobina a través de un conjunto de enzimas proteolíticas (cisteínicas, aspárticas y metaloproteasas) y dejan libre a los aminoácidos que requieren para la síntesis de sus propias proteínas y a los grupos hemo. Estos últimos son altamente oxidantes para los parásitos, principalmente sobre los componentes de sus membranas, y otros blancos moleculares. La toxicidad del grupo hemo, es controlada por el parásito mediante el desarrollo de mecanismos que lo transforman en productos de degradación no tóxicos o mediante su biomineralización o cristalización en las condiciones acídicas de su vacuola digestiva bajo una forma inocua e insoluble, denominada hemozoína.³²

La hemozoína presenta características espectrales, en el infrarrojo idénticas a la de la β -hematina y se ha demostrado que es un cristal de unidades de hemo enlazadas a través de puentes Fe-carboxilato entre ión férrico central de un hemo y el grupo carboxilo del propionato del próximo hemo, formando dímeros que se enlazan unos a otros mediante puentes de hidrógeno dando origen al cristal de la β -hematina. Existen evidencias de que este proceso puede darse espontáneamente bajo las condiciones de acidez imperantes en la vacuola digestiva del parásito. Sobre la base de este hecho, se evaluó la actividad de los compuestos sintetizados durante esta investigación, para interferir con este proceso, considerando que aquellos que inhiban la cristalización del hemo, tal como la CQ, podrían ser antimaláricos potenciales.³³

A continuación en la **tabla 5** se muestran los resultados de la evaluación como ensayo preliminar de la capacidad de inhibición de la cristalización de la hemozoína de los derivados *2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazoles (41a-41e)*.

Tabla 5. Porcentajes de inhibición de polimerización de hemina *in vitro*

Compuesto (mM)	%IPH
controlCQ	98,40
Mezcla 41a	0
<i>cis</i> -41a	ND
<i>trans</i> -41a	0
Mezcla-41b	0
<i>cis</i> -41b	0
<i>trans</i> -41b	0
Mezcla 41c	0
<i>cis</i> -41c	ND
<i>trans</i> -41c	0
Mezcla 41d	0
<i>cis</i> -41d	ND
<i>trans</i> -41d	32,13
Mezcla 41e	0
<i>cis</i> -41e	ND
<i>trans</i> -41e	0

ND: No determinado

Como se puede apreciar solo el compuesto *trans*-41d logró inhibir un 32,13 % la formación de la hemozoína.

En general ninguno de los compuestos evaluados de la serie **41a-41e**, presentó una potencial actividad antimalárica *in vitro*, ya que para ser considerados activos, los compuestos seleccionados deben presentar una capacidad de inhibir la formación de β -hematina o hemozoína con valores superiores al 70% en pruebas *in vitro*.

7. CONCLUSIONES

- ❖ Se sintetizaron 5 derivados de (*E*)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(*H*)-ona (**40a-40e**), con rendimientos superiores al 90% mediante una condensación de Claisen-Schmidt.
- ❖ Se caracterizaron los 5 intermediarios derivados de (*E*)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(*H*)-ona (**40a-40e**), por métodos espectroscópicos como IR, RMN¹H Y RMN¹³C.
- ❖ Se Sintetizaron compuestos derivados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol (**41a-41e**), mediante una ciclo-condensación con hidrazina monohidratada y ácido acético, obteniéndose como resultado una mezcla diastereoisomérica de compuestos *cis* y *trans*.
- ❖ La mezcla diastereoisomérica de los compuesto **41a-41e**, se separó por cromatografía en columna utilizando sílica gel con fase estacionaria y una mezcla de disolventes (Hexano-Cloroformo-Isopropanol), a distintas proporciones como fase móvil.
- ❖ La separación de la mezcla diastereoisomérica (**41a-41e**), dio como producto mayoritario al compuesto *trans* sobre el compuesto *cis*, con rendimientos superiores al 29% en todos los casos.
- ❖ Se caracterizaron todos los derivados obtenidos de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol (**41a-41e**), por métodos espectroscópicos como IR, RMN¹H, RMN¹³C, DEPT, COSY y HETCOR.

- ❖ Ninguno de los compuestos seleccionados de 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol (***cis-trans* 41a-41e**), presentó una potencial actividad antimalárica *in vitro*, al ser evaluados como inhibidores *in vitro* de la formación de β -hematina (IF β H).

8. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar una caracterización química más a fondo, como por ejemplo difracción de Rayos x (RX), de los derivados 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol (***cis-trans* 41a-41e**), para determinar la configuración absoluta de los diastereoisómeros obtenidos.
- ❖ Realizar pruebas biológicas antimaláricas a los intermediarios derivados de (E)-2-benciliden-3,4-dihidronaftalen-1(H)-ona (**40a-40e**).
- ❖ Realizar otro tipo de pruebas biológicas como antimicrobiana y anticáncer a los derivados 2-acil-3,3a,4,5-tetrahidro-2H-benzo[g]-indazol (***cis-trans* 41a-41e**).

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Roll Back Malaria. [Revisado el 15 de Marzo de 2016] de: <http://www.rollbackmalaria.org>
2. Organización Mundial de la Salud, O. M. S(s.f.). OMS.[Revisado el 25 de marzo de 2016], de <http://www.who.int/topics/malaria/es/>
3. A. Tuha, A. Montoya, A. Bekhit, Y. seid, Synthesis and biological screening of some thienyl and phenyl pyrazoline derivatives as antimalarial agent. *Thai. J. Phar. sci.* 38 (2014) 121-129.
4. A. Bernardino, A. Gomez, K. Charret, A. Freitas, M. Machado, M. Canto, L. león, V. Amaral, Synthesis and leishmanicidal activities of 1-(4-X-phenyl)-N'-[(4-Y-phenyl)methylene]-1H-pyrazole-4-carbohydrazides. *Eur. J. Med. Chem.* 41(2006) 80–87.
5. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 11 edition. John H. Block and John M. Beale Jr., editors. Lippincott Williams, (2004) 242-257.
6. A. Escalante, D. Freeland, W Collins, A Lal, The Evolution primate malaria parasites based on the gene encoding cytochrome b from the linear mitochondrial genome, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95 (1998) 8124-8129.
7. S. Antinori, L. Galimberti, L. Milazzo, M. Corbellino, Biology of Human Malaria Plasmodia Including Plasmodium Knowlesi, *Med. J. Hem and Infec. Dis.* 4 (2012) e2012013, DOI: 10.4084/MJHID.2012.013.
8. Garcia, L. Consultantation and Training Services Diagnostic Medical Parasitology and Health Care Administration. [Revisado el 28 de Marzo de 2016], de <http://www.med-chem.com/para-site.php?url=org/plasknow>
9. L. Ash, T. Orihel, Atlas de parasitología Humana. 5^{ta} edición, Editorial médica Panamericana, (2007) 129-146.

10. Manual de Vacunas de Latinoamérica. Asociación Panamericana de Infectología.[Revisado el 25 de marzo de 2016], de: <http://www.stambouliau.com.ar/VACUNAS/-NEWSLETTER-01/>
11. Y. Parra, R. Ferrer, K Montero, M Martínez, Espectroscopia de las interacciones de drogas quinolónicas antimaláricas con Fe(III)PPIX, *Quim. Viv.* 3 (2011) 10.
12. D. Sullivan, Hemozoin: a biocrystal synthesized during the degradation of hemoglobin. In *Biopolymers: Biopolymers and biodegradation of synthetic polymers*, Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. Weinheim, (2002). 129-163.
13. C.D.Fitch, Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids and the antimalarial actions of quinolone drugs, *Life. Sci.* 74 (2004) 1957-1972.
14. K. Bendrat, B.J. Berger , A. Cerami, Haem polymerization in malaria, *Nature*. 378 (1995) 138-139.
15. P. Orjuela, I. Gonzalez, L. Osorio, Terapia combinada como estrategia en la prevención de la resistencia a los antimaláricos, *Biomedica*. 24 (2004) 423-437.
16. P. Bloland , M. Ettlign , S.Meek . Combination therapy for malaria in Africa, *Bull. W. Health. Organ.* 78 (2000) 1378-1388.
17. C. Wongsrichanalai , A. Pickard , W. Wernsdorfer , S.R Meshnick , Epidemiology of drug resistant malaria, *Lancet Infect. Dis.* 2 (2002) 209-218.
18. U.D'Alessandro, H. Buttiens, History and importance of antimalarial drug resistance, *Trop. Med. Int. Health.* 6 (2001) 845-848.
19. D. Moore, J. Lanier. Observations on two Plasmodium falciparum infections with abnormal response to chloroquine, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 10 (1961) 5-9
20. D. Warhurst , A. Chawira , B. Robinson, W. Peters, The effect of combinations of qinghaosu (artemisinin) with standard antimalarial drugs in the suppressive treatment of malaria in mice, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81 (1987) 554-558.
21. J. Charris, J. Domínguez, N. Gamboa, J. Rodrigues, J. Angel, Synthesis and antimalarial activity of E-2-quinolinylnbenzocycloalcanonas, *Eur. J. Med. Chem.* 40 (2005) 875-881.

22. J. Charris, G. Lobo, J. Camacho, R. Ferrer, A. Barazarte, J. Domínguez, N. Gamboa, J. Rodrigues, J. Angel, Synthesis and Antimalarial Activity of (E) 2-(2'-chloro-3'-Quinoliny-methylidene)-5,7-Dimethoxyindanones, *Lett. Drug Des. Dis.* 4 (2007) 49-54.
23. R. Ferrer, G. Lobo, N. Gamboa, J. Rodrigues, C. Abramjunk, K. Jung, M. Lein, J. Charris, Synthesis of [(7-cloroquinilin-4yl)amino]chalcones: potential antimalarial and anticancer agents, *Sci. Pharm.* 77 (2009) 725-741.
24. M.Monasterios. Síntesis y evaluación preliminar de la posible actividad antimalárica y antineoplásica de derivados de 7-cloroquinolina-4-sustituidos. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela, (2013).
25. G. Wanare, R. Aher, N. Kawathekar, R. Ranjan, N. Kaushik, D. Sahal, Synthesis of novel pyranochalcones and pyrazoline derivates as Plasmodium falciparum growth inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Letters.* 20 (2010) 4675-4678.
26. B. Insuasty, A. Montoya, D. Becerra, J Quiroga, R. Abonia, S. Robledo, I. Vélez, Y. Upegui, M. Noguerras, J. Cobo, Synthesis of novel analogs of 2-pirazolyne obtained from [(7-chloroquinolin-4-yl)amino]chalcones and hidrazine as potential antitumor and antimalarial agents, *Eur. J. Med. Chem.* 67 (2013) 252-262.
27. B. Acharya, D. Saraswat, M. Tiwari, A. Shrivastava, R. Ghorpade, S. Bapna, M. Kaushik, Synthesis and antimalarial evaluation of 1,3,5-trisubstituted pyrazolines, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 430-438.
28. N. Mishriky, Y. A. Ibrahim, A. S. Girgis, N. G. Fawzy, New 2 H-benz[g]indazoles of anticipated molluscicidal activity, *Pharmazie.* 54 (1999) 738-742.
29. T. Lorand, F. Aradi, A. Szollosy, G. Toth, T. Konya, Isomerization of substituted tricyclic 4,5-Dihydropyrazoles, *Mon. F. Chem.* 127 (1996) 971-977.
30. C. Lin, S. Singh, P. Chu, R. Dempcy, J. Schmidt. Interaction of tubulin with potent natura and synthetic analogues of antimicotic agent combretastatin, a structure-activity study. *Mol Pharmacol.* 34 (1988) 200-208.
31. M. Boiani, M. Gonzaez. Imidazole and Benzimidazole derivates as chemotherapeutic agents. *Mini-Rev Med Chem.* 5 (2005) 409.

32. H. Ginsburg, O. Famin, J. Zhang, M. Kruglik. Inhibition of glutathione-dependent degradation of heme by chloroquine and amodiaquine as a possible basis for their antimalarial mode of action. *Biochem Pharmacol.* 56 (1998) 1305-1313.
33. T. Egan, Haemozoin Formation as a Target for the Rational Design of New Antimalarials. *Drug Desing Rev.* 1 (2004) 93-110.