



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SINTESIS DE DERIVADOS DE LA NICOTINAMIDA
CON POSIBLE ACTIVIDAD ANTIPROTOZOARIA**

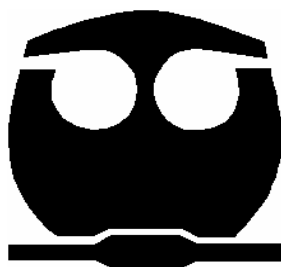
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

SILVIA PATRICIA MELCHOR DONCEL DE LA TORRE



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

| | |
|---------------|--------------------------------------|
| Presidente | Prof. ARMANDO CABRERA ORTIZ |
| Vocal | Prof. CARLOS DAMIAN ZEA |
| Secretario | Prof. FRANCISCO HERNANDEZ LUIS |
| 1er. Suplente | Prof. ALFONSO LIRA ROCHA |
| 2º. Suplente | Prof. MARTIN ANDRES IGLESIAS ARTEAGA |

Sitio en donde se desarrolló el tema: LABORATORIO 122, CONJUNTO E, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, FACULTAD DE QUIMICA, UNAM.

Nombre completo y firma del asesor del tema:
DR. FRANCISCO HERNANDEZ LUIS

Nombre completo y firma del supervisor técnico:
M. en C. ISRAEL VELAZQUEZ MARTINEZ

Nombre completo y firma del sustentante:
SILVIA PATRICIA MELCHOR DONCEL DE LA TORRE

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| Introducción | |
| 1. Marco teórico..... | 1 |
| 1.1. Leishmaniosis y su agente etiológico..... | 1 |
| 1.1.2 Ciclo de vida..... | 2 |
| 1.1.3 Epidemiología..... | 3 |
| 1.1.4 Cuadro clínico..... | 4 |
| 1.1.5 Tratamiento..... | 5 |
| 1.2. La nicotinamida y algunos aminoácidos como agentes antiparasitarios..... | 8 |
| 1.2.1. La nicotinamida..... | 8 |
| 1.2.2. Ésteres metílicos de aminoácidos..... | 10 |
| 1.2.3. Híbridos de la nicotinamida..... | 11 |
| 2. Planteamiento del problema e hipótesis..... | 12 |
| 3. Objetivos..... | 13 |
| 3.1. Objetivo general..... | 13 |
| 3.2. Objetivos específicos..... | 13 |
| 4. Metodología..... | 15 |
| 4.1. Metodología general para la síntesis de amidas..... | 15 |
| 5. Resultados | 21 |
| 5.1. Compuestos sintetizados..... | 21 |

| | | |
|-----|---|----|
| 5.2 | Caracterización de los compuestos sintetizados..... | 21 |
| 5.3 | Actividad antiprotozoaria..... | 27 |
| 6. | Discusión de resultados..... | 28 |
| 6.1 | Híbridos de la nicotinamida..... | 28 |
| 6.2 | Síntesis de los compuestos..... | 29 |
| 6.3 | Caracterización de los compuestos..... | 32 |
| 6.4 | Actividad antiprotozoaria..... | 36 |
| 7. | Conclusiones..... | 37 |
| | Bibliografía..... | 38 |
| | Apéndice 1..... | 41 |
| | Apéndice 2..... | 49 |

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que las enfermedades más relevantes en países en vías de desarrollo son:

| Enfermedad | Agente causal | |
|----------------------|-----------------------------------|--------------|
| Tuberculosis | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | Bacteria |
| Paludismo | <i>Plasmodium spp.</i> | Protozooario |
| Enfermedad de Chagas | <i>Trypanosoma cruzi</i> | Protozooario |
| Leishmaniosis | <i>Leishmania spp.</i> | Protozooario |
| Oncocercosis | <i>Onchocerca volvulus</i> | Helminto |

Las enfermedades causadas por protozoarios constituyen actualmente un problema de salud pública a nivel mundial. Las opciones de tratamiento para estas infecciones son limitadas. Los fármacos utilizados no presentan una buena eficacia terapéutica, presentan problemas de resistencia por parte de los patógenos; y fueron introducidos a la clínica desde hace más de veinte años. Lo anterior acentúa la importancia de la búsqueda y desarrollo de nuevos fármacos, eficaces y seguros, contra los parásitos causales de dichas enfermedades.

El presente trabajo tuvo como objetivo general la síntesis de moléculas que pudiesen presentar actividad antiprotozoaria tomando como estructura de referencia a la nicotinamida. Se ha informado que la nicotinamida logra afectar a algunos protozoarios como la leishmania en concentraciones del orden milimolar. Por ello puede ser considerada como una molécula prototipo para su posterior optimización. En este caso particular se utilizó la estrategia de la hibridación molecular para intentar que dicha molécula pudiese ampliar su espectro de acción antiparasitaria.

Los derivados sintetizados presentan modificaciones en la porción amida de la nicotinamida. Los compuestos obtenidos se caracterizaron estructuralmente por métodos espectroscópicos (resonancia magnética nuclear de hidrogeno y de carbono, infrarrojo) y espectrométricos (masas). Dichos derivados fueron enviados para su evaluación antiprotozoaria.

1. MARCO TEÓRICO

En este apartado se encuentra la información referencial del presente trabajo de tesis. La información está dividida en dos secciones principales: la primera contiene los aspectos relevantes del protozooario del género *Leishmania* como agente causal de la leishmaniosis; y en la segunda se encuentran generalidades sobre la nicotinamida y algunos aminoácidos como agentes antiparasitarios.

1.1. Leishmaniosis y su agente etiológico

La leishmaniosis es una parasitosis de evolución crónica que afecta la piel, mucosas y vísceras; y es causada por diversas especies y subespecies del género *Leishmania* y transmitida por mosquitos de la familia *Psychodidae*.

Leishmania es un protozooario intracelular, que pertenece a la familia *Trypanosomatidae*. Estos parásitos presentan dos estadios de vida:

- Amastigote: Es de forma redonda u oval, mide 2-7 μm de diámetro, presenta membrana, citoplasma, núcleo esférico compacto y cinetoplasto.
- Promastigote: Es fusiforme de 16-18 μm de longitud, núcleo central y el blefaroplasto está en posición anterior al núcleo de donde emerge un flagelo que sale del parásito.^{7,16}

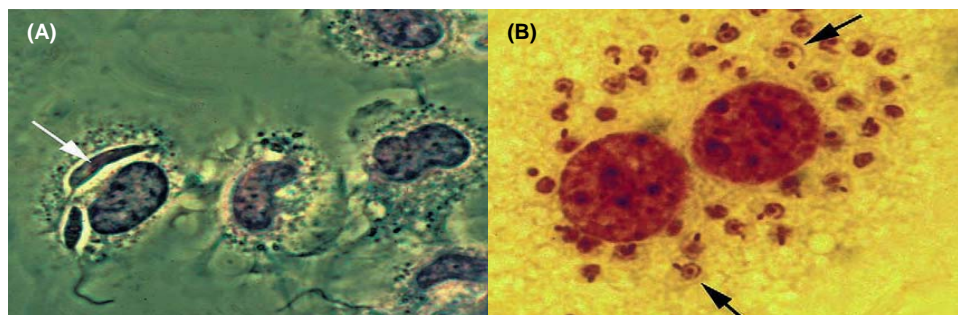


Figura 1. Macrófagos infectados con *L. donovani*. **(A)** Ingestión de 2 promastigotes por macrófagos . **(B)** Replicación intracelular de amastigotes en macrófagos.

1.1.2. Ciclo de vida

El ciclo inicia cuando el mosquito trasmisor adquiere los parásitos (amastigotes) al alimentarse de sangre de un vertebrado infectado. Los amastigotes ingeridos evolucionan a la forma de promastigotes que se multiplican por fisión binaria y se acumulan en el intestino del mosquito. Después de la replicación, los promastigotes migran al esófago y la laringe del insecto. Al picar de nueva cuenta, el mosquito inocula los promastigotes al huésped vertebrado; en el torrente sanguíneo los macrófagos fagocitan a los protozoarios inoculados. Una vez dentro de los macrófagos, los promastigotes se diferencian a amastigotes los cuales proliferan intensamente por fisión binaria. En cada macrófago, la cantidad de amastigotes puede llegar hasta 200, lo que ocasiona distensión y ruptura de esta célula. Los amastigotes liberados infectan nuevos macrófagos, donde se multiplican nuevamente (Figura 2).^{5, 25}

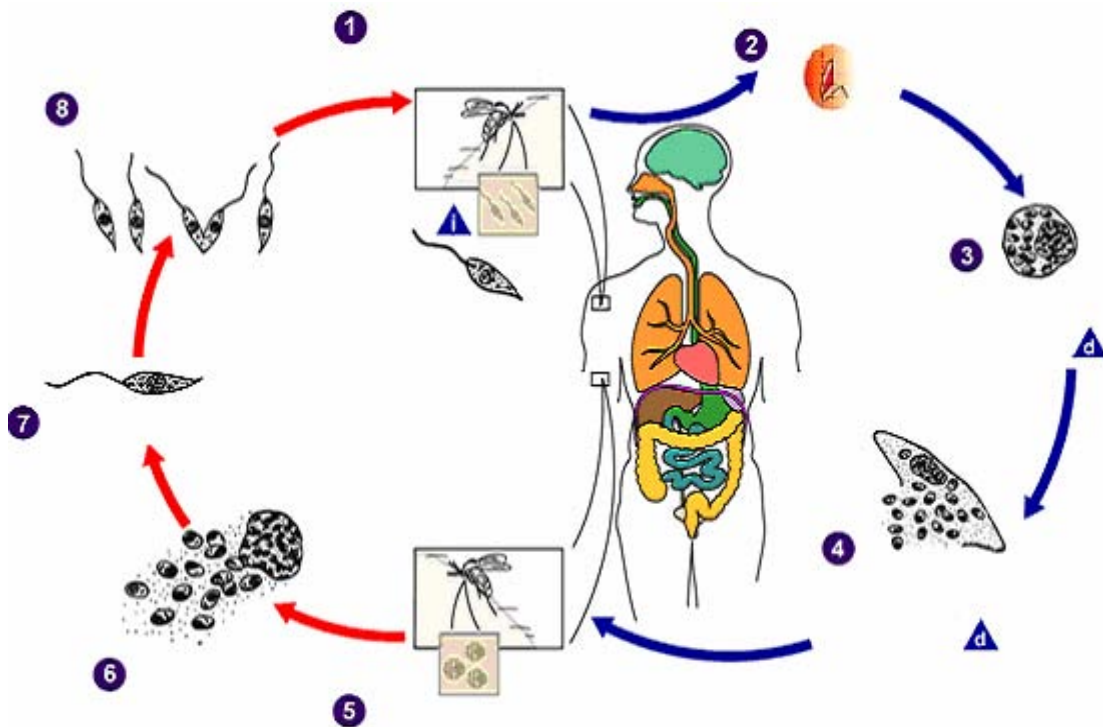


Figura 2. Ciclo de vida de *Leishmania*. Estadios en el humano: ① El mosquito inyecta promastigotes en la piel, ② Promastigotes fagocitados por macrófagos, ③ Promastigotes se transforman en amastigotes en el interior del macrófago, ④ El amastigote se multiplica en las células de diversos tejidos. Estadios en el mosquito: ⑤ El mosquito ingiere macrófagos infectados con amastigotes, ⑥ Ingestión de la célula infectada, ⑦ El amastigote se transforma en promastigote en el intestino del mosquito, ⑧ los promastigotes se dividen y migran hacia la proboscis. d= diagnóstico; i= infeccioso.

1.1.3. Epidemiología

La leishmaniosis afecta 88 países en varios continentes. Se encuentra en África, Asia, Europa (Francia, Portugal y en las costas del Mediterráneo) y América. En este último, se distribuye desde el sureste de los EUA, hasta el norte de Argentina y Paraguay, con excepción de Chile y Uruguay. Anualmente su incidencia es de 1.5 a 2 millones de casos de leishmaniasis cutánea y 500,000 casos de leishmaniosis visceral. Prevalece en 12 millones de personas infectadas y una población en riesgo de 350 millones.¹⁰



Figura 3. Distribución Mundial de la leishmaniosis (OMS, 2005).

En México la leishmaniosis se ha reportado al menos en 18 de las 32 entidades federativas: Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Nayarit, San Luis Potosí, Morelos, Puebla e Hidalgo.⁷

Las diferentes especies de *Leishmania* han encontrado en nuestro país el medio ambiente ecológico adecuado, en el que los trasmisores y reservorios juegan un papel importante para el establecimiento y dispersión de la enfermedad.

1.1.4. Cuadro clínico

Se considera que al menos 20 especies de *Leishmania* son responsables de las distintas formas clínicas con que puede presentarse la enfermedad. En el hombre la enfermedad ocurre en al menos cuatro formas.^{5, 11,16}

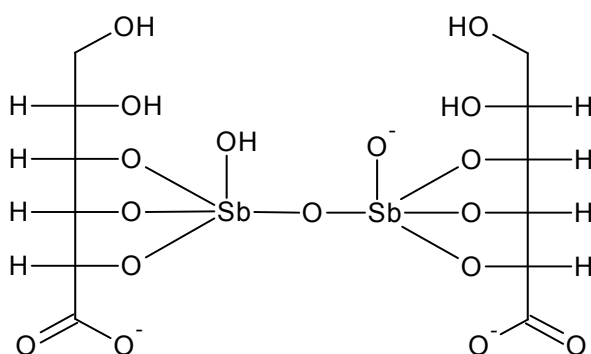
Tabla 1. Cuadro clínico de la leishmaniosis

| Forma clínica | Microorganismo causal | Características |
|--|--|--|
| Leishmaniosis cutánea localizada (LCL) | <i>L. tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. mexicana</i> | Úlceras únicas o múltiples, redondas, de bordes indurados y elevados, e indoloras. Curación espontánea en un plazo de 6 meses a 3 años, excepto cuando la lesión ocurre en el pabellón auricular donde es crónica y mutilante |
| Leishmaniosis cutánea difusa (LCD) | <i>L. mexicana</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. amazonensis</i> | Existe una falta de respuesta del sistema inmunitario celular hacia los antígenos de <i>Leishmania</i> , lo que permite la diseminación del parásito con el desarrollo de lesiones nodulares en toda la piel, excepto el cuero cabelludo. El parásito se disemina lentamente por el líquido tisular, la linfa o la sangre. |
| Leishmaniosis mucocutánea (LM) | <i>L. braziliensis</i> <i>L. panamensis</i> | Caracterizada por una úlcera cutánea inicial y en ocasiones puede presentarse hasta 24 años después de la infección original. Los daños son secundarios a la reacción inflamatoria, que ocurre en la mucosa nasal, bucal y faríngea, y que llevan a la degeneración del tabique nasal. |
| Leishmaniosis visceral (LV) | <i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i> <i>L. chagasi</i> | En los órganos afectados (hígado, bazo, médula ósea y tejido linfático) se forman pequeños granulomas que dañan a las vísceras. Los principales síntomas son fiebre intermitente, pérdida de peso y astenia, hepatoesplenomegalia, linfadenopatías y pancitopenia. |

1.1.5. Tratamiento

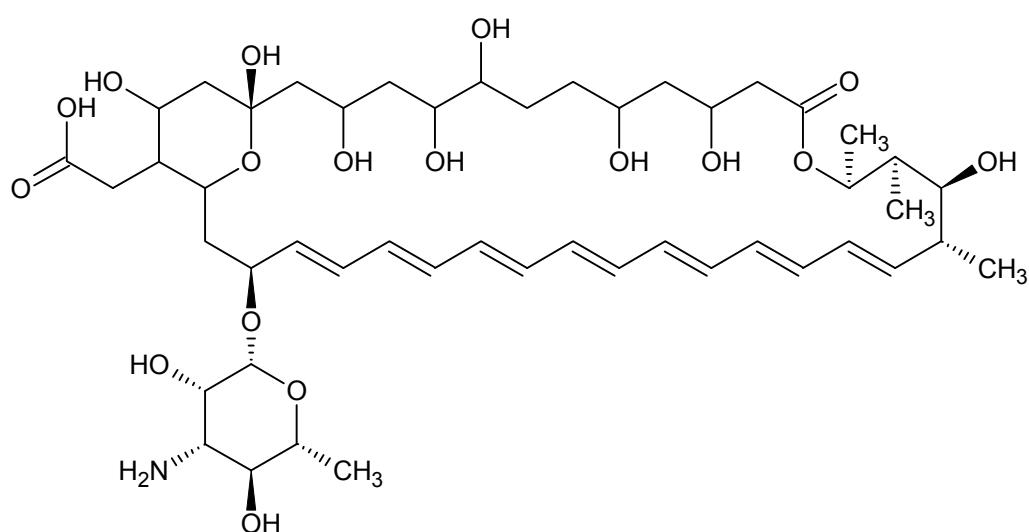
Debido a la ausencia de vacunas y a las dificultades vinculadas con el control del vector del parásito, el único recurso terapéutico actual es la quimioterapia. Se utilizan dos líneas básicas de tratamiento: la primera con antimoniales pentavalentes, y la segunda, con anfotericina B y pentamidina.⁹

Los antimoniales pentavalentes son el estibogluconato de sodio y el antimoniato de meglumina, ambos similares en eficacia y toxicidad. Se encuentran en el mercado farmacéutico desde la década de los 40. El principal mecanismo de acción de los antimoniales pentavalentes contra las diferentes especies de *Leishmania* es la disminución en el nivel del ATP intracelular en el amastigote, debido a la intervención en la glicólisis y en la β -oxidación de ácidos grasos. La resistencia y los fracasos en el tratamiento con dichos fármacos se han incrementado; en zonas con una alta incidencia se reporta entre el 50 al 60% de pacientes sin respuesta al tratamiento. Los efectos adversos que se presentan por la administración de estos compuestos son fiebre, erupción cutánea, cefalea, pancreatitis, mialgias, artralgias, dolor abdominal, náuseas, trombocitopenia ó leucopenia y cardiotoxicidad. El tratamiento con estos fármacos es costoso, el precio oscila entre 30 dólares (estibogluconato de sodio, genérico), 120 dólares (antimoniato de meglumina, Glucantime®, Aventis) y 150 dólares (estibogluconato de sodio, Pentostame®, GlaxoSmithKline) en base al esquema recomendado por la OMS: 20 mg de antimonio por kilogramo de peso por día durante 30 días.^{10,16}



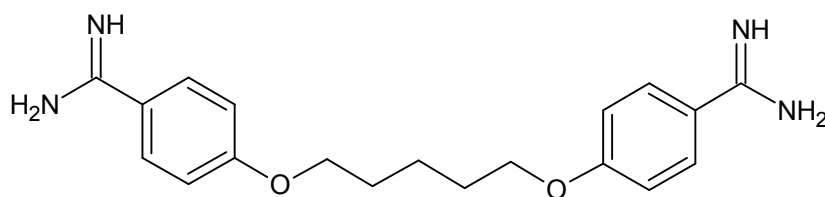
estibogluconato de sodio

La anfotericina B actúa sobre los esteroides y fosfolípidos de las membranas celulares. En dosis altas puede provocar fiebre, hipopotasemia, hipomagnesemia y nefrotoxicidad. El costo del tratamiento se encuentra alrededor de 60 dólares (Anfotericina B, Bristol-Myers), según el esquema de la OMS: 1mg por kg de peso por día durante 20 días. Las nuevas anfotericinas liposomales (AmBisome®, Gilead) permiten realizar un curso de tratamiento más corto con menor toxicidad, alta eficiencia (1 mg por kg de peso por día durante 5 días), pero un mayor costo en el tratamiento de (1500 dólares), restringiendo su uso a países industrializados.



anfotericina B

La pentamidina ha sido empleada desde 1952. Puede tener múltiples efectos en el parásito, entre los cuales podemos mencionar: agregación ribosómica, inhibición de la síntesis de ADN y de proteínas, inhibición de varias enzimas y pérdida del cinetoplasto. Los efectos adversos que pueden presentarse son abscesos, taquicardia, vómito, hipoglucemia, cardiotoxicidad y nefrotoxicidad.



pentamidina

Otros fármacos que se utilizan en el tratamiento de la leishmaniasis son alopurinol, ketoconazol, itraconazol, imidazoquinolina y paromomicina. La miltefosina es el primer fármaco de administración por vía oral, ha sido aprobado en la India para el tratamiento de la leishmaniasis visceral; la principal limitación de la miltefosina es su efecto teratogénico. ^{20, 21}

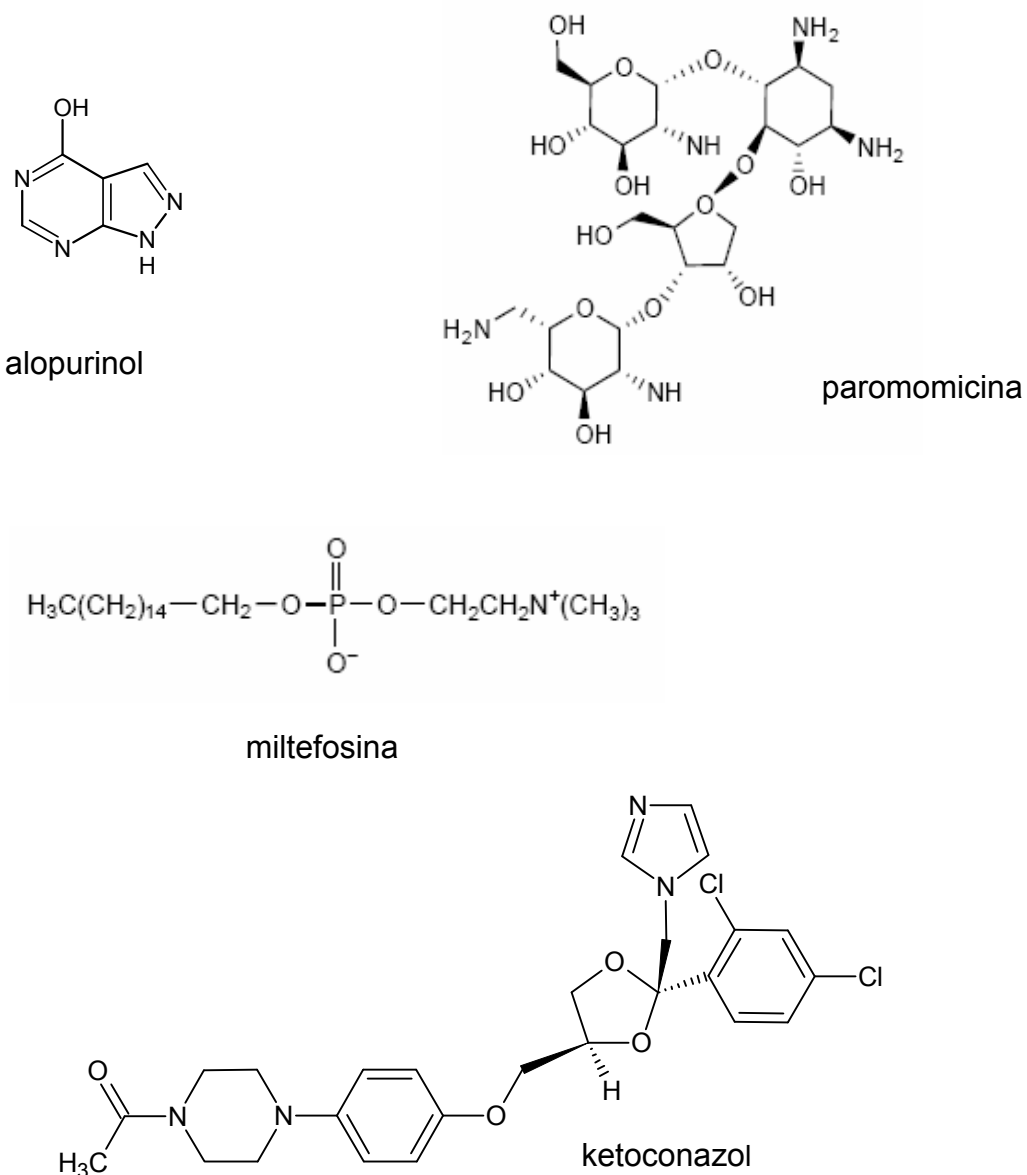


Figura 4. Estructuras de algunos fármacos leishmanicidas.

1.2. La nicotinamida y algunos aminoácidos como agentes antiparasitarios

1.2.1. La nicotinamida

Las herramientas moleculares disponibles actualmente permiten identificar macromoléculas presentes en parásitos, implicadas en una vía biológica determinante y diferente o inexistente, en el hospedero. Para estas macromoléculas (blancos) se pueden buscar moléculas específicas que inhiban sus funciones biológicas con el consecuente daño para el parásito.

En este contexto, en 1996 un miembro de la familia de proteínas conocidas como SIR2 (Silent Information Regulation 2) fue identificado por primera vez en *Leishmania major*. Las proteínas de esta familia SIR2 constituyen un importante regulador de diversos procesos celulares tales como silenciamiento de genes, apoptosis, metabolismo y envejecimiento. Los homólogos de estas proteínas SIR2 tienen diferentes localizaciones subcelulares pero todas tienen en común la actividad de acetilasa dependiente de NAD.¹³

Recientes investigaciones sobre la inactivación del gen SIR2 de *L. infantum* demostraron que es esencial para la sobrevivencia de los parásitos. Resulta interesante el hecho de que al obligarlo a expresar un nivel mínimo de proteína SIR2, el parásito fue incapaz de proliferar en el macrófago en condiciones *in vitro*. Por estos resultados, la proteína SIR2 de *Leishmania spp.* puede ser considerada como un nuevo blanco terapéutico potencial contra la leishmaniasis.²³

Con el fin de ampliar estos conocimientos, se han buscado inhibidores específicos de la familia SIR2. La nicotinamida ha demostrado ser un inhibidor no competitivo de las proteínas SIR2 en otros organismos como *Saccharomyces cerevisiae*. Cuando se investigó en *Leishmania major* la nicotinamida no fue capaz de impedir la proliferación de promastigotes, sin embargo la de los amastigotes (intracelulares) fue afectada severamente, así como la actividad de acetilasa dependiente de NAD, a concentraciones del orden de 5mM. Por ello resulta

interesante considerar esta molécula como una estructura prototipo en la búsqueda de agentes leishmanicidas con mayor potencia.²²

Además de la leishmania, se sabe que otro protozooario de importancia médica posee proteínas de la familia SIR2, dicho parásito es el Plasmodium, agente causal del paludismo o malaria. El paludismo es la enfermedad parasitaria más importante del mundo y con excepción de la tuberculosis, es la que más decesos provoca cada año. La malaria sigue amenazando al 40% de la población mundial. Este protozooario infecta a más de 500 millones de personas y causa la muerte de más de 2 millones cada año. En México se presentan casos de paludismo en los estados de Chihuahua, Durango, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Nayarit, Tabasco, Chiapas y Oaxaca. En el año 2007 se presentaron 1548 casos solo en el estado de Chiapas.

La cloroquina es el fármaco de elección para el tratamiento y quimiopprofilaxis del paludismo desde la década de los 40, su éxito radica en que es bien tolerada (aún con su uso prolongado), bajo costo y fácil manejo. Pero su utilidad contra *Plasmodium* esta seriamente comprometida por resistencia que presentan estos parásitos. Esto es muy frecuente en cepas de *P. falciparum* y en menor incidencia para *P. vivax*. Lo cual acentúa la importancia de la búsqueda de nuevas moléculas que sean seguras y de bajo costo.¹⁵

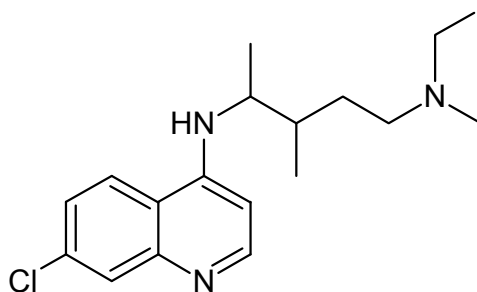


Figura 5. Estructura de la cloroquina.

1.2.2. Ésteres metílicos de aminoácidos

El transporte de nutrientes y iones en las células es importante para el mantenimiento de la homeostasis, el metabolismo y la adaptación del parásito en un medio ambiente hostil en sus vectores y hospederos. Se conoce que la L-arginina es el principal aminoácido utilizado por las células de leishmania para sus funciones metabólicas. *L. donovani* utiliza cantidades de arginina comparables a las de D-glucosa. El transporte de la arginina por el parásito es uno de los más específicos.

Por otra parte los ésteres metílicos de aminoácidos han sido identificados como agentes que tienen su blanco en el sistema lisosomal de los amastigotes de *Leishmania spp.* La lisis del parásito posiblemente ocurre porque el éster metílico del aminoácido es atrapado intracelularmente e hidrolizado por enzimas para liberar metanol. El aminoácido en su forma libre no puede salir del lisosoma, lo que provoca afluencia de agua, hinchamiento y disrupción del organelo.^{1,12}

Concentraciones de ésteres metílicos de aminoácidos que no afectan a los macrófagos, matan a más del 90% de amastigotes sugiriendo una hidrólisis eficiente de estos compuestos por enzimas del parásito. El sitio de transformación de los ésteres de aminoácidos es el compartimiento lisosomal, que aparece como vacuolas denominadas megasomas; estos megasomas son organelos ricos en cisteinproteasas y otras enzimas lisosomales.¹⁸

Por lo anterior, los ésteres de aminoácidos han sido identificados como un posible agente quimioterapéutico. También han demostrado tener actividad contra *Trypanosoma cruzi* (epimastigotes).

1.2.3. Híbridos de la nicotinamida.

La hibridación molecular se basa en la unión de dos moléculas, a través de enlaces covalentes, para formar una nueva estructura que potencie la acción biológica de ambas.²

La nicotinamida representa una molécula de interés para la formación de híbridos dado que posee actividad antiparasitaria en amastigotes de leishmania, no existen reportes de efectos adversos y es un inhibidor no competitivo de las proteínas SIR2.

Con la intención de generar mayor conocimiento sobre la actividad antiparasitaria de la nicotinamida, sería interesante evaluar los híbridos sintetizados contra especies del género *Plasmodium*, con la finalidad de observar si la asociación de la nicotinamida con otras moléculas puede aumentar el espectro de actividad antiparasitaria, actualmente restringida para el género *Leishmania*.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

Planteamiento del problema

En virtud de que la nicotinamida ha mostrado actividad contra los amastigotes de leishmania, ¿será posible aplicar alguna estrategia de la química farmacéutica para contar con moléculas de con más amplio espectro antiparasitario derivadas de esta sustancia?

Hipótesis

Mediante la estrategia de la hibridación molecular, se podrá ampliar el espectro de actividad antiparasitaria de la nicotinamida. Las moléculas híbridas estarán constituidas por la nicotinamida y porciones estructurales de compuestos con actividad antiparasitaria previamente evaluada.

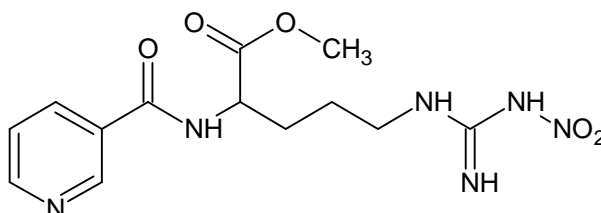
3. OBJETIVOS:

3.1 Objetivo General

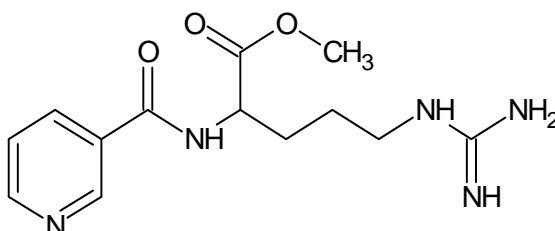
Sintetizar cinco moléculas híbridas constituidas por la nicotinamida y derivados de la arginina o 7-cloroquinolina o aminometilbenzoato de metilo como posibles agentes antiparasitarios.

3.2 Objetivos Específicos

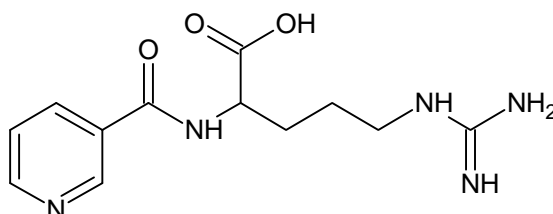
3.2.1 Sintetizar los siguientes compuestos:



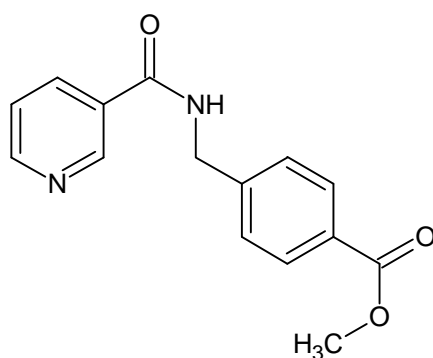
5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonyl)amino]pentanoato de metilo (1)



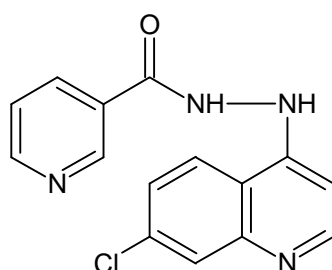
5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonyl)amino]pentanoato de metilo (2)



Ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonyl)amino]pentanoico (3)



4-[[[(piridin-3-ilcarbonil)amino]metil]benzoato de metilo (4)



N-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)

3.2.3 Determinar las propiedades físicas de los compuestos, tales como punto de fusión, R_f y apariencia de los compuestos.

3.2.4 Caracterizar estructuralmente los compuestos sintetizados por métodos espectroscópicos y espectrométricos.

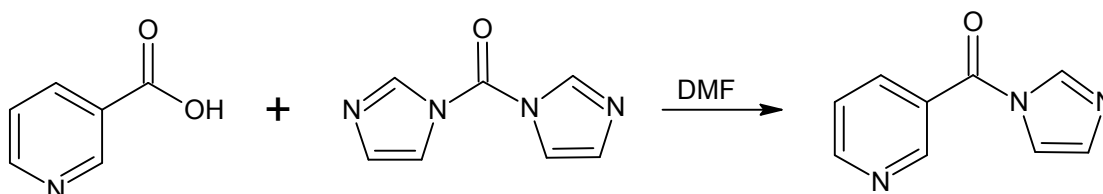
3.2.5 Enviar a evaluación biológica los compuestos sintetizados.

4. METODOLOGÍA

En el siguiente apartado se muestra una breve descripción de los procedimientos experimentales utilizados en la síntesis de los compuestos. Los detalles de cada procedimiento se encuentran en el Apéndice 1.

4.1 Metodología general para la síntesis de amidas:

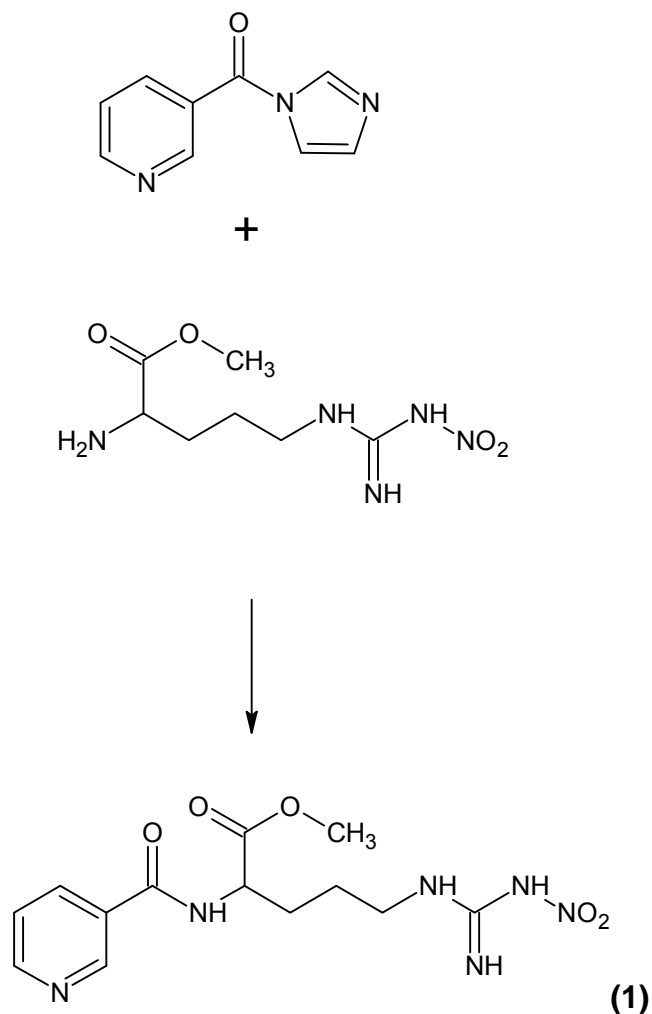
La síntesis de los compuestos (**1** – **5**) se inició con la activación del ácido nicotínico con 1,1-carbonildiimidazol (CDI) y se utilizó dimetilformamida (DMF) como disolvente. La mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente, durante 5 horas. El producto de reacción fue el intermediario 3-(1*H*-imidazol-1-ilcarbonil)piridina.



El intermediario favoreció el segundo paso de la reacción que consistió en:

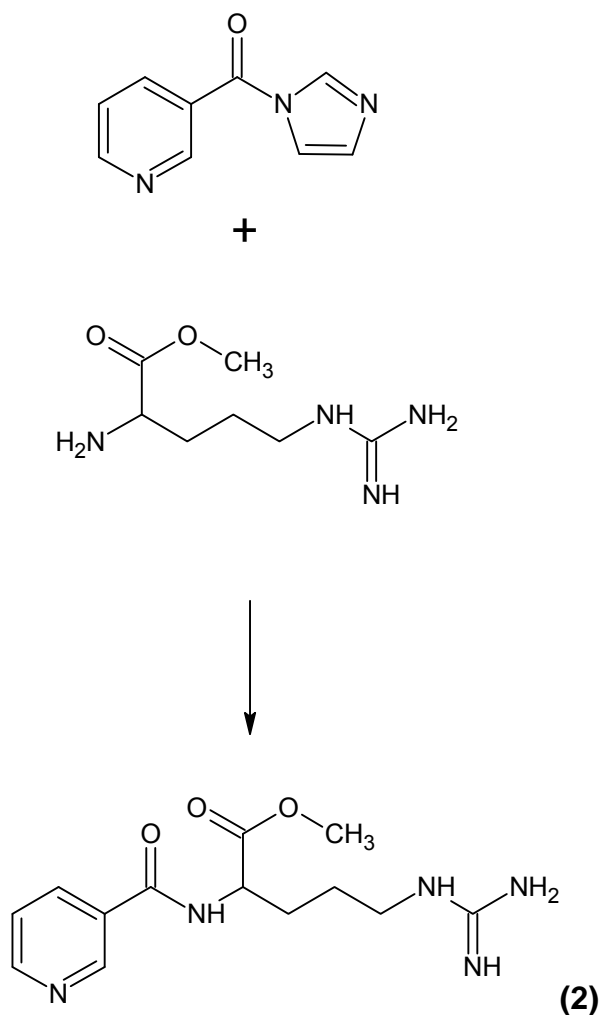
- **Síntesis del 5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1).**

Para la síntesis del compuesto **1**, se agregó al matraz de reacción clorhidrato de *N*_ω-nitro-L-argininato de metilo y *N,N'*-diisopropiletilamina (DIPEA) la cual funcionó como base para liberar el clorhidrato y así obtener la amida correspondiente.



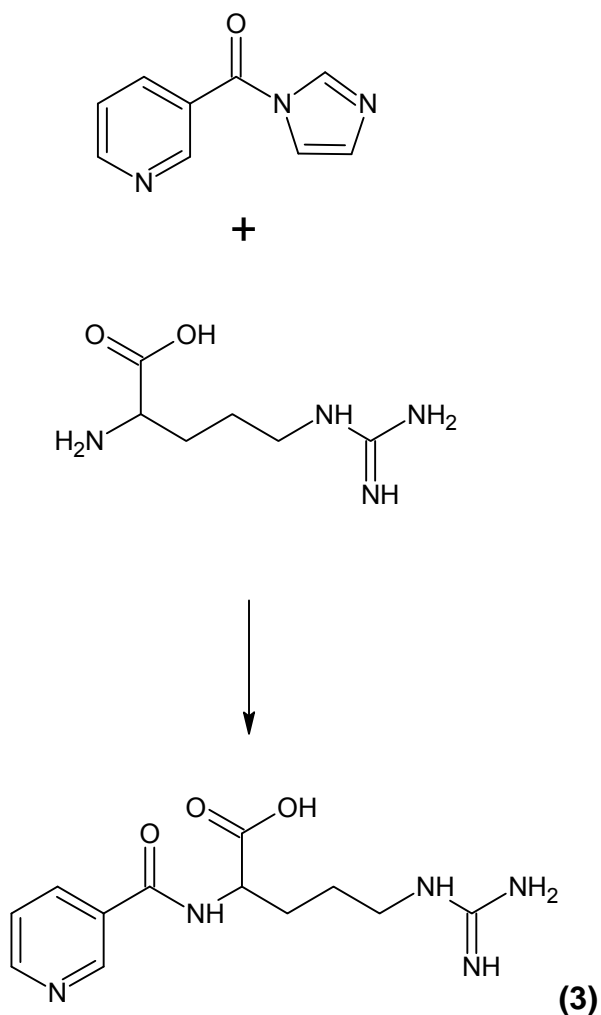
▪ **Síntesis de 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoato de metilo (2).**

Para la preparación del compuesto **2**, se adicionó al matraz de reacción clorhidrato de L-argininato de metilo y DIPEA la cual funcionó como base para liberar el clorhidrato y así obtener la amida correspondiente.



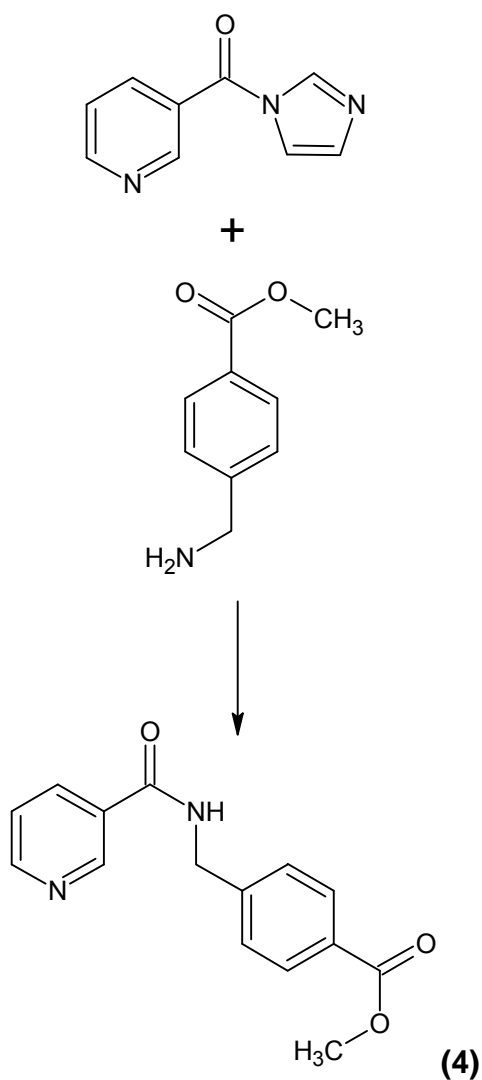
- Síntesis del ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoico (3).

En este caso también se formó el intermediario (imidazólico) y posteriormente se colocó en el matraz la L-arginina, el producto de la reacción fue el compuesto 3.



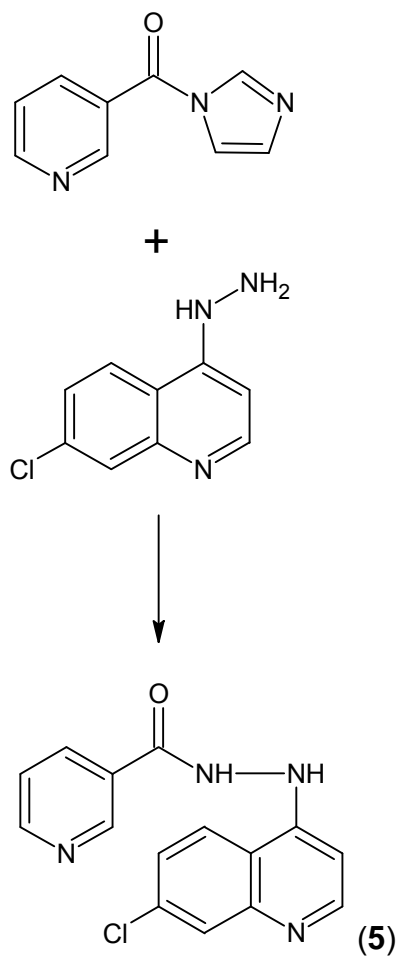
▪ Síntesis del 4-[[piridin-3-ilcarbonil]amino]metil}benzoato de metilo (4).

Para la preparación del compuesto 4, se adicionó clorhidrato de 4-aminometil benzoato de metilo y DIPEA la cual funcionó como base para liberar el clorhidrato y así obtener la amida correspondiente.



- Síntesis de *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5).

El compuesto 5 se sintetizó preparando el intermediario (imidazólico), el cual reaccionó con la 7-cloro-4-hidrazinoquinolina.



5. RESULTADOS

5.1 Compuestos sintetizados

En la **Tabla 2** se muestran las propiedades físicas de los compuestos sintetizados.

Tabla 2. Propiedades de los compuestos sintetizados

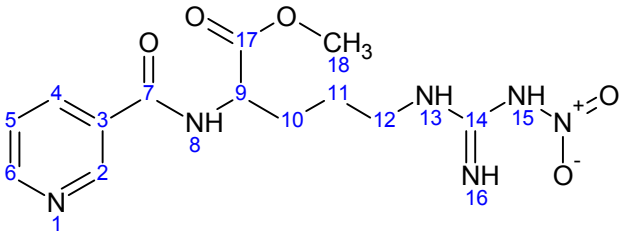
| Compuesto | Rendimiento (%) | Punto de Fusión (°C) | R _f [*] | Aspecto |
|-----------|-----------------|----------------------|-----------------------------|-------------------|
| 1 | 51.4 | - | 0.46 ^I | Aceite amarillo |
| 2 | 45.1 | - | 0.42 ^I | Aceite amarillo |
| 3 | 30.4 | - | 0.31 ^{III} | Aceite amarillo |
| 4 | 90.6 | 136.1-136.4 | 0.40 ^{II} | Sólido blanco |
| 5 | 81.2 | 247.5-247.9 | 0.50 ^I | Sólido anaranjado |

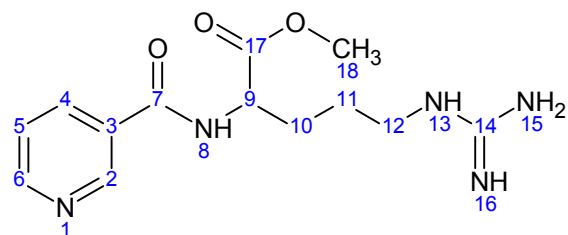
*Sistema de elusión I= CHCl₃/MeOH 80:20; II= CHCl₃/MeOH 90:10; III= CHCl₃/MeOH 50:50

5.2 Caracterización de los compuestos sintetizados

A continuación se muestran los resultados espectroscópicos y espectrométricos, con los cuales fue posible la caracterización de los compuestos sintetizados. Los espectros de donde se obtuvieron estos datos, se encuentran en el Apéndice 2.

Tabla 3. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos sintetizados

| Compuesto | Datos espectroscópicos y espectrométricos. |
|--|--|
|  <p>5-(nitrocarbamidamido)-2-[(piridin-3-il-carbonil)amino]pentanoato de metilo; 5-[[imino(nitroamino)metil]amino]-2-[(piridin-3-il-carbonil)amino]pentanoato de metilo; N^5-[imino(nitroamino)metil]-N^2-(piridin-3-il-carbonil)ornitinato de metilo; N^8-nitro-N^2-(piridin-3-il-carbonil)-L-argininato de metilo. (1)</p> <p>PM = 338.319 g/mol</p> | <p>Espectro 1. IR ν_{\max} (película): 3292.05 (NH), 1738.02 (C=O, éster), 1644.88 (C=O, amida), 1594.48 (NH), 1537.03 y 1273.46 (-NO₂), 1436.54 (-CH₂), 1162.26 (R-CO-O-CH₃) cm⁻¹</p> <p>Espectro 2. EM (ID/FAB): [M+1]= 339 (80%); [M+1+M]= 677 (2%)</p> <p>Espectro 3. RMN ¹H (MeOH-<i>d</i>₄) δ (ppm): 8.8 (d, 1H, $J=2$Hz, H-2), 8.5 (dd, 1H, $J=1.6$Hz, $J=5.2$Hz, H-6), 8.1 (dt, 1H, $J=2$Hz, $J=8$Hz, H-4), 7.6 (s, 1H, H-8), 7.3 (dd, 1H, $J=4.8$ Hz, $J= 8$Hz, H-5), 6.9 (s, 2H,H-13,H-16), 4.5 (m, 1H, H-9), 3.5 (s, 3H, H-18), 3.18 (m, 2H, H-12), 1.84 (m, 2H, H-10), 1.59 (sa, 2H, H-11).</p> |



5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-il-carbonil)amino]pentanoato de metilo;
 5-[[amino(imino)metil]amino]-2-[(piridin-3-il-carbonil)amino]pentanoato de metilo;
 N^2 -(piridin-3-il-carbonil)-L-argininato de metilo.

(2)

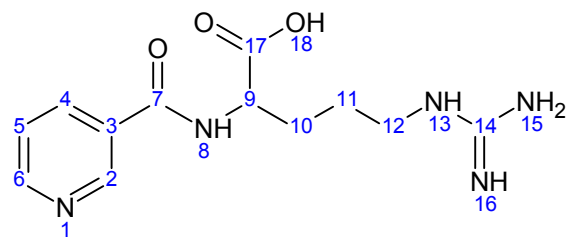
PM = 293.321 g/mol

Espectro 4. IR v_{\max} (película): 3254.23(NH), 1740.05(C=O, éster), 1645.27 (C=O, amida), 1595.07 (NH), 1476.45 (-CH₂), 1165.43 (R-CO-O-CH₃) cm⁻¹

Espectro 5. EM (ID/FAB+): [M+1]= 294 (100%); [M+1+M]= 587 (1%)

Espectro 6. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ (ppm):

9 (d, 1H, $J=2$ Hz, H-2), 8.7 (dd, 1H, $J=2$ Hz, $J=6$ Hz, H-6), 8.3 (dt, 1H, $J=2.8$ Hz, $J=10.8$ Hz, H-4), 7.9 (s, 1H, H-8), 7.5 (ddd, 1H, $J=0.8$ Hz, $J=6.4$ Hz, $J=10.8$ Hz H-5), 7.1 (s, 2H), 4.4 (m, 1H, H-9), 3.6 (s, 3H, H-18), 3.1 (m, 2H, H-12) 1.84 (m, 2H, H-10), 1.6 (m, 2H, H-11).



ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-il-carbonil)amino]pentanoico;
 ácido 5-[[amino(imino)metil]amino]-2-[(piridin-3-il-carbonil)amino]pentanoico;
 N^2 -(piridin-3-il-carbonil)-arginina.

(3)

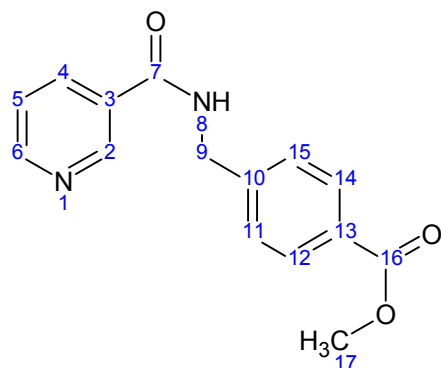
PM = 279.29 g/mol

Espectro 7. IR v_{\max} (película): 3360.19 (COOH y NH₂), 1642.51. (C=O), 1594.07 (NH), 1474.44 (-CH₂) cm⁻¹

Espectro 8. EM (ID/FAB+): [M+1]= 294 (66%); [M+1+M]= 559 (4%)

Espectro 9. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ (ppm):

9.1(s, 1H, H-18), 8.7 (d, 1H, $J=2$ Hz, H-2), 8.4 (dd, 1H, $J=1.6$ Hz, $J=4.8$ Hz, H-6), 7.9 (dt, 1H, $J=1.9$ Hz, $J=8$ Hz, H-4), 7.1 (dd, 1H, $J=4.8$ Hz, $J=7.9$ Hz, H-5), 4.2 (m, 1H, H-9), 2.49 (s, 2H, H-12), 1.84 (m, 2H, H-10), 1.54 (m, 2H, H-11)



4-[[[(piridin-3-ilcarbonil)amino]metil]benzoato de metilo

(4)

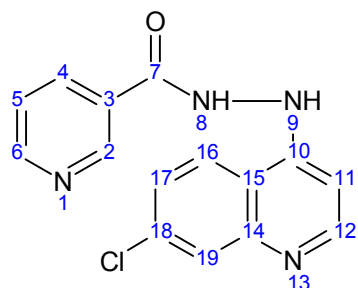
PM = 270.28 g/mol

Espectro 10. IR ν_{\max} (KBr/Pastilla) 3254.44 (NH), 3054.02 (C-H, Ar), 1722.45 (C=O, éster), 1660.58 (C=O, amida), 1542.68 (C=C, Ar) 1280.04 (C-C-O), 1106.70 (O-C-C) cm^{-1}

Espectro 11. EM (IE) m/z 270 (74%, M^{+})

Espectro 12. RMN ^1H (MeOH- d_4) δ (ppm):

9.0 (d, 1H, $J=1.6\text{Hz}$, H-2), 8.6 (dd, 1H, $J=1.6\text{Hz}$, $J=4.8\text{Hz}$, H-6), 8.2 (dt, 1H, $J=2\text{Hz}$, $J=8\text{Hz}$, H-4), 7.9 (d, 2H, $J=8\text{ Hz}$, H-12, H-14), 7.5 (dd, 1H, $J=4.8\text{Hz}$, $J=7.6\text{Hz}$ H-5), 7.4 (d, 2H, $J=8.4\text{Hz}$, H-11, H-15), 4.65 (s, 2H, H-9), 3.8 (s, 3H, H-17).



N-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida

(5)

PM = 298.72 g/mol

Espectro 13. IR ν_{\max} (KBr/Pastilla) 3264 (NH), 3264.98 (NH), 1621.67 (C=O, amida), 1582.46 (NH), 1298.81 (C-N)

Espectro 14. EM (IE) m/z 298 (34%, M^{+}), 106 (100%, $M-192$) $C_6H_4NO^+$

Espectro 15. RMN 1H (DMSO- d_6) δ (ppm):

10.9 (s, 1H, H-8), 9.6 (s, 1H, H-9), 9.1 (s, 1H, H-2), 8.8 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, H-6), 8.4 (s, 1H, H-12), 8.3 (m, 2H, H-16, H-4), 7.8 (s, 1H, H-19), 7.6 (m, 2H, H-17, H-5), 6.7 (d, 1H, $J=5.2$ Hz, H-11)

Espectro 16. RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ (ppm):

164.58 (C-7), 152.433 (C-14, C-2), 150.663 (C-12, C-10), 148.382 (C-6), 135.02 (C-4, C-18), 133.828 (C-3), 128.38 (C-5), 126.833 (C-16), 124.807 (C-19), 124.088 (C-17), 123.629 (C-15), 116.169 (C-11).

5.3 Actividad Antiprotozoaria

5.3.1 Evaluación de la actividad antimalárica *In vitro* contra esquizontes de *P. berghei*.

Tabla 4. Actividad antimalárica

| Compuesto | CI ₅₀ (μM) |
|-----------|-----------------------|
| 1 | N.A.* |
| 2 | 6.60 |
| 3 | 2.34 |
| 4 | 2.51 |
| 5 | 2.18 |

*N.A.= No activo

5.3.2 Evaluación de la actividad leishmanicida *In vitro* contra promastidotes de *Leishmania mexicana*.

Únicamente el compuesto *N*-(7-cloroquinolin-4il)nicotinohidrazida (5) resultó activo contra *Leishmania mexicana*. Su CI₅₀ fue de 344.46 μM

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Híbridos de la nicotinamida.

La nicotinamida al igual que algunos derivados de aminoácidos presenta actividad contra la *Leishmania spp.* en su estado intracelular; por lo que para ampliar el espectro de actividad antiparasitaria de la nicotinamida se realizó una serie de cinco híbridos.

Los compuestos **1**, **2** y **3** son híbridos conformados por la nicotinamida y derivados de la arginina, un aminoácido esencial para las funciones metabólicas del parásito. Los compuestos **1** y **2** poseen un grupo éster cuyo blanco se encuentra en el sistema lisosomal del parásito. La presencia del grupo nitro en el compuesto **1** tuvo como finalidad contar con una molécula de arginina más liposoluble para atravesar membranas biológicas y de esta manera aumentar la actividad antiparasitaria.

El compuesto **4**, es un híbrido de nicotinamida y un aminoácido no esencial, el cual posee un éster metílico por las razones expuestas en el marco teórico. El uso de un aminoácido no esencial es con la intención de explorar la importancia que las moléculas esterificadas necesariamente tengan que ser aminoácidos esenciales para manifestar actividad antiparasitaria.

El compuesto **5** es un híbrido con la 7-cloroquinolina; la síntesis de este compuesto se basó en la estructura de la quinolina, un farmacóforo presente en algunos fármacos utilizados contra la malaria, como la cloroquina (**Figura 5**). El cloro en la posición 7 del anillo de la quinolina confiere acción antipalúdica. Se sabe que las modificaciones en el grupo amino de la cadena lateral de la cloroquina pueden producir compuestos activos contra cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes a este fármaco. Un acortamiento en la distancia de los nitrógenos de la cadena lateral en análogos de la 7-cloroquinolina muestra mayor actividad contra cepas resistentes. En este trabajo, se utilizó la hidrazina como “conector” entre el

nicotinoilo y la 7-cloroquinolina con la idea de identificar si es estrictamente necesaria una porción alquílica en esta posición para que se presente la actividad antiparasitaria

6.2 Síntesis de los compuestos

Para la síntesis de los híbridos **1**, **2** y **3** se planteó seguir la siguiente ruta sintética:

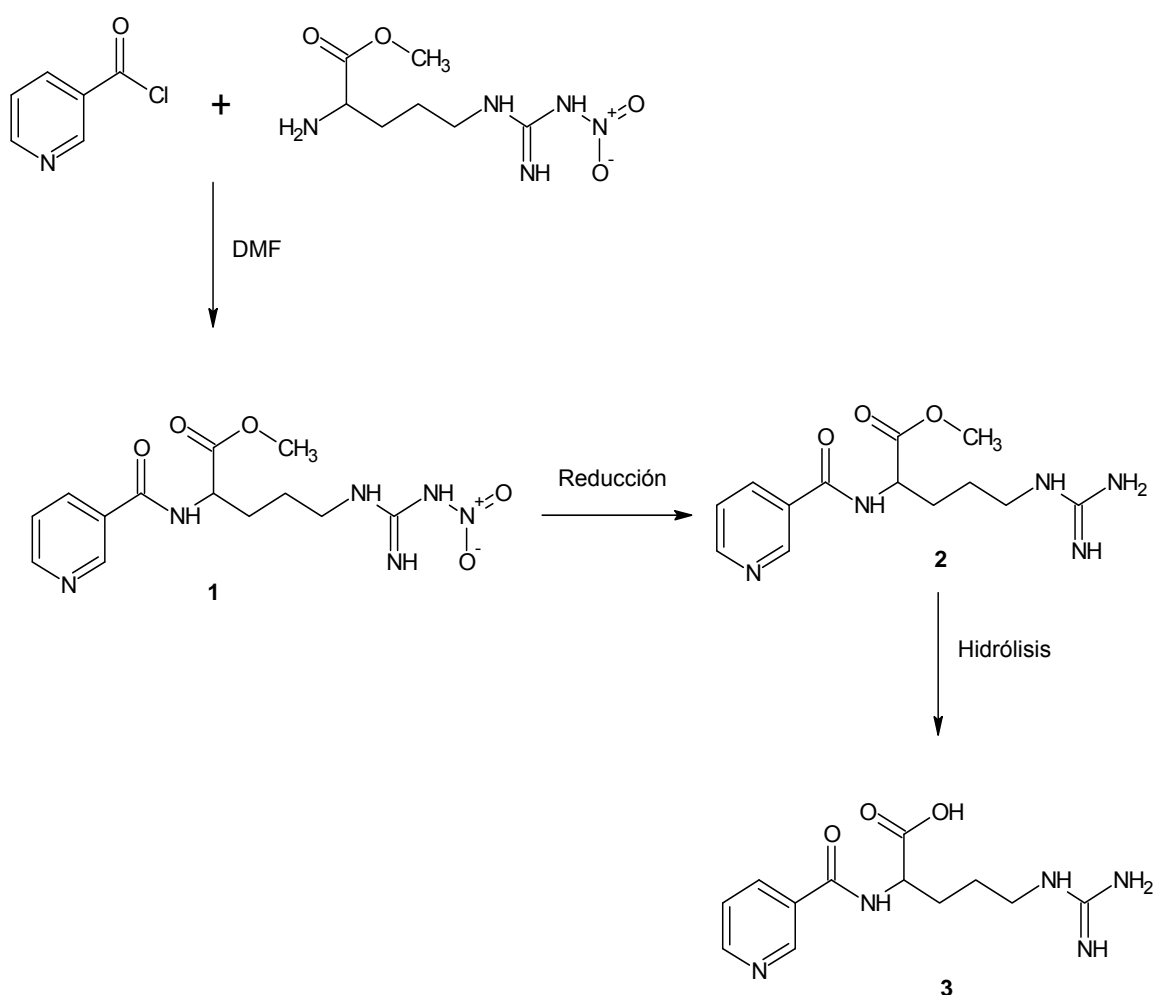


Figura 6. Ruta sintética propuesta para **1**, **2** y **3**.

Originalmente se planeó sintetizar el compuesto **1** como la primer sustancia de la ruta anterior. Se hizo reaccionar el clorhidrato de cloruro de nicotinoilo con el clorhidrato de *N*_ω-nitro-L-argininato de metilo, utilizando DMF y trietilamina (TEA). La

mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 24 h; el producto de la reacción fue el compuesto **1**, el cual se obtuvo en muy bajo rendimiento (<20%). Se procedió a buscar una ruta alterna para obtener un mayor rendimiento. La activación del ácido nicotínico con 1,1-carbonildiimidazol incrementó el rendimiento. Los productos de esta reacción fueron el intermediario 3-(1*H*-imidazol-1-ilcarbonil)piridina e imidazol; el intermediario posee buen grupo saliente (imidazol) para el posterior ataque nucleofílico de la amina. Este método de síntesis presenta varias ventajas: se requiere menor tiempo de reacción, se lleva a cabo a temperatura ambiente y se obtienen menor número de impurezas, las cuales fueron eliminadas por cromatografía en columna.

Siguiendo la ruta de síntesis de la **Figura 6**. Una vez preparado el compuesto **1** se planeaba realizar la desprotección del grupo nitro, vía la reducción catalítica para la obtención del compuesto **2**.

Para efectuar la reducción del grupo nitro se probaron varios métodos reportados en la literatura. Primero se empleó hidrosulfito de sodio (ditionito de sodio, Na₂S₂O₄); Para ello se colocaron agua, carbonato de sodio (3 moles), compuesto **1** (1 mol) y ditionito de sodio (3 moles), se dejó en agitación, bajo atmósfera de nitrógeno, después de 24 horas no se observaron cambios en la presencia de la prima, la cual se monitoreó por ccf.

Después se empleó como catalizador Ni-Raney; se colocó el compuesto **1**, Ni-Raney (30% del peso del compuesto **1**), cloruro de amonio (NH₄Cl) en agua. La mezcla se calentó a reflujo durante 5 h; se obtuvo un aceite de color verde con un valor de R_f distinto al de la materia prima. El espectro de masas por el método de IE no fue contundente ya que no se observó el ión molecular esperado; sin embargo, mostró la fragmentación correspondiente a la nicotinamida (**Figura 7**). Mientras que en el espectro de infrarrojo (**Figura 8**) se observaron bandas que se podrían atribuir a la presencia del grupo nitro (1552.90 y 1388.19 cm⁻¹). Por lo tanto, podemos decir que este método tampoco fue efectivo para el propósito planteado.

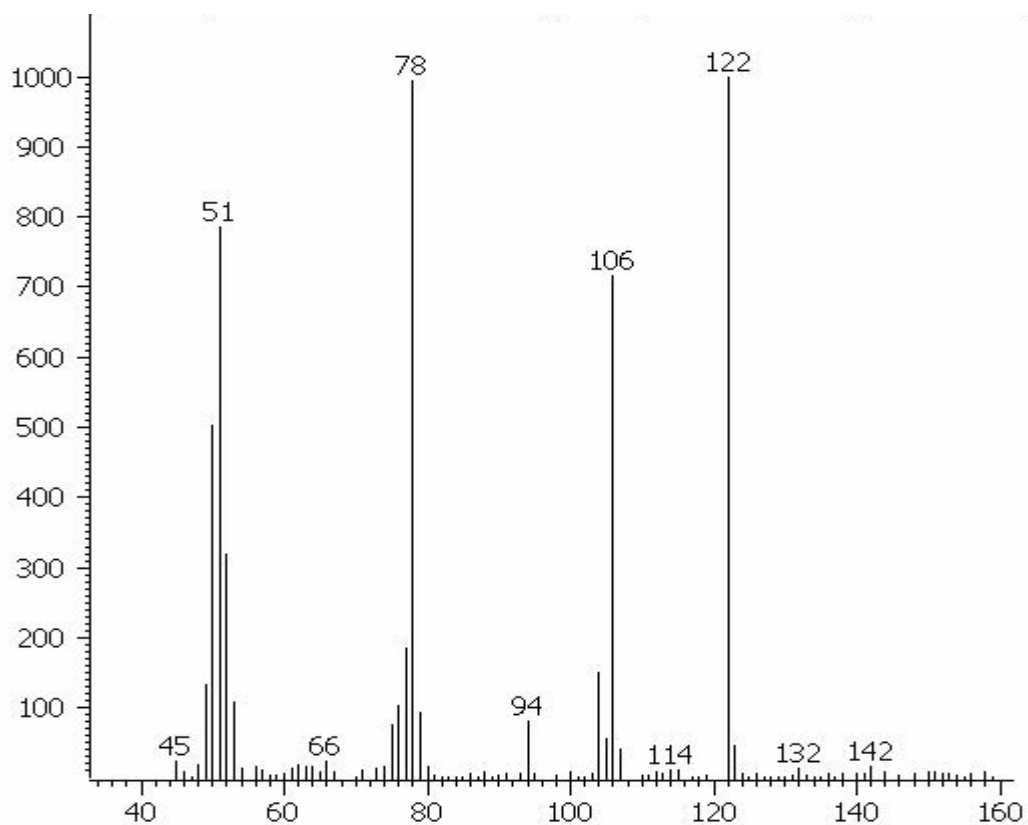


Figura 7. Espectro de masas del compuesto 1 después de la reducción con Ni-Raney.

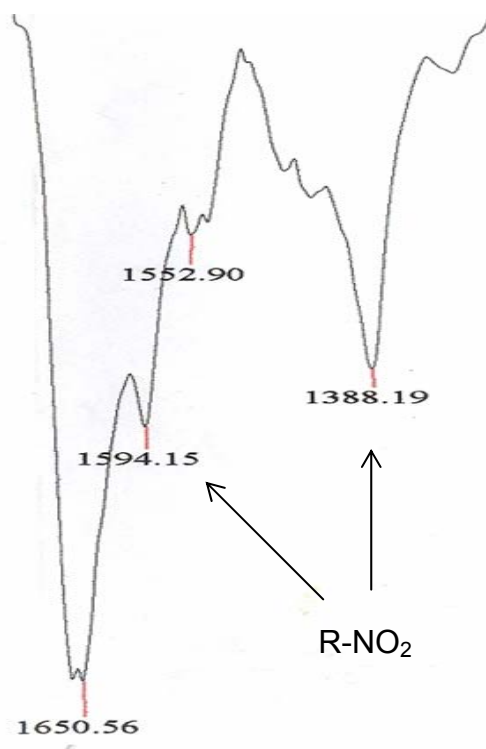


Figura 8. Porción del Espectro de infrarrojo del compuesto 1 después de la reducción con Ni-Raney

Finalmente se utilizó como catalizador Pd/C al 10% (10% del peso del compuesto), formiato de amonio (HCO_2NH_4) en metanol, cuya reacción se efectuó a temperatura ambiente, después de 24 horas no se observaron cambios significativos en la presencia de la materia prima en la ccf.

Dado que por ninguno de los métodos mencionados se obtuvo el compuesto **2**, se realizó la síntesis como se describe en la metodología utilizando CDI y de L-argininato de metilo (Sigma-Aldrich), donde se obtuvo un rendimiento del 45.1%

En el caso del compuesto **3**, se pensó realizar la hidrólisis del éster en el compuesto **2**, por una base acuosa o por un ácido acuoso, formando el ácido carboxílico, más metanol. Considerando que la reacción de formación del intermediario es sencilla, se optó por ese método; una vez preparado el intermediario se agregó la arginina. El compuesto **3** se obtuvo con un rendimiento de 30.4%, debido a la alta polaridad de la molécula, lo cual hizo difícil su purificación.

Los compuestos **4** y **5**, se obtuvieron con buenos rendimientos (90.6% y 81.2 %) respectivamente. Ambas sustancias fueron sintetizados y purificados fácilmente.

6.3 Caracterización de los compuestos.

Espectroscopia de Infrarrojo.

En los espectros de IR (película) de los compuestos **1**, **2** y **3** (espectros 1, 4 y 7) se observó una banda entre 3400 y 3000 cm^{-1} fuerte, amplia y estructurada, característica del estiramiento N-H en aminoácidos.

Para el compuesto **1** aparecieron las bandas correspondientes a la amida, al éster y al grupo nitro; en 1537.03 cm^{-1} el estiramiento asimétrico de N-NO_2 y en 1273.46 cm^{-1} el estiramiento simétrico de N-NO_2 . El espectro de IR del compuesto **2**, mostró las bandas de NH y del éster. En el espectro del compuesto **3**, se observó una banda en 3360.19 cm^{-1} que puede pertenecer al estiramiento COO-H o al

estiramiento N-H, ya que ambos se encuentran en el mismo rango. Respecto al compuesto **4**, el espectro de IR (espectro 10) mostró las bandas características de la amida y los estiramientos C-C-O (1280.04 cm^{-1}) y O-C-C (1106.70 cm^{-1}). En el espectro del compuesto **5** (espectro 13), se encontraron, primero una banda en 3428.59 cm^{-1} correspondiente al estiramiento N-H de amina aromática, unas bandas características del grupo amida y cuatro bandas entre $1600\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ que señalan la presencia de insaturación aromática.

A continuación se muestran las frecuencias a las que aparecieron las bandas del grupo amida y del grupo éster para los diferentes compuestos.

Tabla 5. Bandas representativas del grupo amida en los compuestos sintetizados.

| Compuesto | Banda de estiramiento del enlace N-H | Banda de estiramiento del enlace C=O | Banda de torsión del enlace N-H |
|-----------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 3292.05 cm^{-1} | 1644.88 cm^{-1} | 1594.48 cm^{-1} |
| 2 | 3254.23 cm^{-1} | 1645.27 cm^{-1} | 1595.12 cm^{-1} |
| 3 | 3360.19 cm^{-1} | 1642.51 cm^{-1} | 1594.07 cm^{-1} |
| 4 | 3254.44 cm^{-1} | 1660.58 cm^{-1} | 1594.93 cm^{-1} |
| 5 | 3264.98 cm^{-1} | 1621.67 cm^{-1} | 1582.46 cm^{-1} |

Tabla 6. Bandas representativas del grupo éster en los compuestos sintetizados.

| Compuesto | Banda de estiramiento del enlace C=O (éster) | Banda de estiramiento del enlace C-O |
|-----------|--|---|
| 1 | 1738.82 cm^{-1} | 1162.26 cm^{-1} |
| 2 | 1740.05 cm^{-1} | 1165.43 cm^{-1} |
| 4 | 1722.45 cm^{-1} | $1280.04\text{ y }1106.70\text{ cm}^{-1}$ |

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear

En los espectros de ^1H -RMN de los compuestos **1** al **4**, se observaron las señales correspondientes a los protones de la nicotinamida en la zona de 9 a 7 ppm.

Para los compuestos **1**, **2** y **3** se asignó a las señales en 7.5, 7.9 y 7.1 ppm, el hidrogeno del grupo N-H (amida). Además se observó la parte alifática de dichas moléculas (señales correspondientes a los hidrógenos H-9, H-10, H-11 y H-12). En los espectros de ^1H -RMN de los compuesto **1** y **2**, la señal de 3.5 ppm que integró para tres hidrógenos fue asignada al grupo $-\text{OCH}_3$. En los espectros de estos compuestos no se observaron todos los hidrógenos del grupo guanidino, debido a que tienen un tiempo relajación alto además de que algunos espectros fueron determinados utilizando CD_3OD como disolvente.

A continuación se mencionan las señales del espectro de ^1H -RMN para el compuesto **4** (Espectro 12): la señal de 7.9 ppm se asignó a los hidrógenos H-12 y H-14 y la señal de 7.4 ppm a los hidrógenos H-11 y H-15. Los hidrógenos H-12 y H-14 aparecieron a un desplazamiento mayor que los hidrógenos H-11 y H-15, dado que éstos están desprotegidos al encontrarse cercanos al grupo ($-\text{COOCH}_3$). En este caso no se observó el H-8 pues posiblemente se intercambio con el $\text{MeOH-}d_4$.

El espectro de ^1H -RMN del compuesto **5** (Espectro 15) mostró los hidrógenos de la hidrazina H-8 y H-9 cuyos desplazamientos fueron 10.9 ppm y 9.6 ppm respectivamente. Para la RMN de ^{13}C del compuesto **5** (Espectro16) los desplazamientos teóricos se calcularon en el programa ACD/Labs con lo cual, fueron asignadas las señales de los carbonos. En este caso, la elucidación estructural no fue tan clara como en los casos anteriores, dado que los H y los C presentes en la molécula tienen desplazamientos muy semejantes por lo que el compuesto **5** se envió a un experimento de correlación en 2D (HSQC).

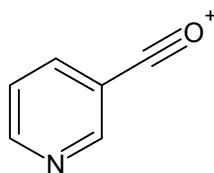
Espectrometría de Masas.

Para los compuestos **1**, **2** y **3** el método de ionización es FAB (dada la naturaleza polar de las moléculas), ya que por IE no se observó el ión molecular esperado de los productos. FAB es una técnica de ionización blanda y no induce mucha fragmentación en la molécula. El espectro de masas de éstos compuestos mostró el ión cuasimolecular $[M+1]$ esperado en todos los casos.

Tabla 7.

| Compuesto | PM (g/mol) | $[M+1]$ | $[M+1]+M$ |
|-----------|------------|---------|-----------|
| 1 | 338.319 | 339 | 677 |
| 2 | 293.321 | 294 | 587 |
| 3 | 279.29 | 280 | 559 |

En el caso de los compuesto **4** y **5**, la técnica de ionización empleada fue IE. En estos espectros se puede apreciar que el ión molecular correspondió al peso molecular de los productos sintetizados y cuyo pico base podría pertenece a la estructura que se muestra a continuación:



6.4 Actividad Antiprotozoaria.

Se evaluó la actividad antimalárica de los compuestos sintetizados en esquizontes de *P. berghei*. De los híbridos de la nicotinamida con la arginina, se observó que el grupo nitro no es fundamental para que se presente la actividad antimalárica; mientras que el compuesto **3** es el más activo, probablemente a que el transporte de la arginina es un de los más específicos. Los compuesto **4** y **5** mostraron ser activos contra *P. berghei*. y presentan CI_{50} del orden micromolar (2.51 y 2.18 μ M, respectivamente) lo que los postula como principios activos de interés contra *Plasmodium spp.* Estos compuestos tienen ventaja con respecto al compuesto **3**, ya que son sólidos; lo cual en un futuro podría hacer más sencilla su formulación farmacéutica, cuyo propósito está incluido en la optimización de prototipos.

Para el caso de *L. mexicana*, solamente el compuesto **5** mostró actividad contra el promastigote de este protozario, aunque con un valor de CI_{50} que no es prometedor. Posteriormente, los compuestos serán evaluados contra los amastigotes de *Leishmania* en este estadio se espera que presenten una mejor actividad como se demostró en estudios previos con la nicotinamida.^{13,22}

7. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron las cinco moléculas híbridas propuestas en los objetivos específicos: 5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoato de metilo (**1**), 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoato de metilo (**2**) y ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoico (**3**), 4-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]metil}benzoato de metilo (**4**) y *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (**5**).
- Se planteó un método de síntesis sencillo donde las reacciones se llevaron a cabo bajo condiciones suaves (temperatura ambiente). Los híbridos se obtuvieron en un procedimiento de dos etapas.
- Los rendimientos obtenidos para los compuestos **1**, **2** y **3** son bajos debido a que éstos son aceites, lo que hizo difícil su manejo y purificación. Los compuestos **4** y **5** fueron purificados fácilmente por recristalización y se obtuvieron con buenos rendimientos.
- Los compuestos se caracterizaron a través de métodos espectroscópicos y espectrométricos.
- Los compuestos sintetizados se evaluaron contra esquizontes de *P. berghei* y se determinó la CI_{50} . Tres de los compuestos sintetizados son de interés como agentes antipalúdicos. Los compuestos **4** y **5** poseen una CI_{50} de 2.51 μ M y 2.18 μ M, respectivamente. De los híbridos de la nicotinamida con la arginina, el compuesto **3** es el que resultó más sobresaliente pues posee una CI_{50} de 2.34 μ M.
- Contra los promastigotes de *Leishmania* ninguno de los compuestos presentó actividad a valores menores a 20 μ M. Solamente el compuesto **5** mostró actividad a valores de 300 μ M.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adade C. **Effect of L-Leucine methyl ester on growth and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi***. Acta Tropica 2007; 101: 69-79.
2. Avendaño, López C. **Introducción a la Química Farmacéutica**. España, Ed. Mc-Graw-Hill.2001.
3. Alfieri S. **Proteinase inhibitors protect *Leishmania amazonensis* amastigotes from destruction by amino acid esters**. Molecular and biochemical Parasitology 1988; 29: 191-201.
4. Baley, Patrick D. **An introduction of peptide chemistry**. England, Ed. J. Wiley, 1992.
5. Becerril, Flores R. **Parasitología médica de las moléculas a la enfermedad**. México. Ed. Mc-Graw-Hill.2004.
6. Bhaumik, K. **Nitroarene reduction using Raney nickel alloy with ammonium chloride in water**. Canadian Journal of Chemistry 2003; 81: 197-198.
7. Biagi, Francisco. **Enfermedades parasitarias**. México. Ediciones científicas.1998.
8. Cunico, W. **Antimalarial activity of 4-(5-trifluoromethyl-1H-pyrazol-1-yl)-chloroquine analogues**. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 2006; 16: 649-653.
9. Croft, S. **Leishmaniasis current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs**. Trends in Parasitology 2003; 19: 502-508.

-
10. Desjeux, P. **Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comparative Immunology. Microbiology and Infectious Diseases** 2004; 27: 305-318.
 11. Herwalt, B. **Leishmaniasis. Lancet** 1999; 354: 1191–99.
 12. Huynh, Ch. ***Leishmania amazonensis* Rab7 promotes toxicity of amino acid esters Leu-OMe amastigote megasomes. Molecular and Biochemical Parasitology** 2003; 132: 101-104.
 13. Kadam, R. **Comparative protein modeling and surface analysis of *Leishmania sirtuin*: A potential target for antileishmanial drug discovery. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters** 2006; 16: 6013-6018.
 14. Lemesre, J. ***Leishmania* spp.: Nitric Oxide-Mediated Metabolic Inhibition of Promastigote and Axenically Grown Amastigote Forms. Experimental Parasitology** 1997; 86: 58–68.
 15. Madrid, P. **Synthesis of ring-substituted 4-aminoquinolines and evaluation of their antimalarial activities. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters** 2005; 15: 1015-1018.
 16. Murray, H. **Advances in Leishmaniasis. Lancet** 2005; 366: 1561-1577.
 17. Ono, Noburo. **The nitro group in organic synthesis. New York, Ed. Wiley-VCH, 2001.**
 18. Rabinovitch M. **Destruction of *Leishmania mexicana amazonensis* amastigotes within macrophages by lisosomotropic amino acid esters. Journal of Experimental Medicine.** 1986; 163: 520-535.

-
19. Ram, S. **A General Procedure for mild and rapid reduction of aliphatic and aromatic nitro compounds using ammonium formate as a catalytic hydrogen transfer agent.** Tetrahedron Letters 1984; 25: 3415-3418.
 20. Reguera R. **The Pharmacology of Leishmaniasis.** Gen Pharmac 1998; 30: 435-443.
 21. Saldaña, L. **Leishmaniasis.** Dermatología Peruana 2004; 14: 82-98.
 22. Sereno, D. **In Vitro Antileishmanial Activity of Nicotinamide. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** 2005; 49: 808–812.
 23. Vergnes, B. **Targeted disruption of cytosolic SIR2 deacetylase discloses its essential role in Leishmania survival and proliferation.** Gene 2005; 363: 85–96.
 24. Yearick, K. **Overcoming Drug Resistance to Heme-Targeted Antimalarials by Systematic Side Chain Variation of 7-Chloro-4-aminoquinolines.** Journal of Medicinal Chemistry, 2008; 51: 1995-1998.
 25. www.dpd.cdc.gov
 26. <http://www.who.int/leishmaniasis/>
 27. <http://www.scielo.org>
 28. <http://www.mex.ops-oms.org/>

APÉNDICE 1.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Apéndice 1. Procedimientos experimentales.

Instrumentación

La regulación de la temperatura de las canastillas de calentamiento utilizadas en las síntesis de los compuestos, se realizó por medio de un regulador de voltaje Staco Energy Products Co., tipo 2PF 1010.

Para concentrar las soluciones se empleó un rotaevaporador Büchi modelo RC-114 con baño Büchi modelo B-480 y condensador de dedo frío, acoplado a una bomba de vacío de diafragma marca Vacuubrand modelo PC610 con regulador CVC2”.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Büchi modelo B-540 usando capilares abiertos. Los puntos de fusión no están corregidos.

Cromatografía

El monitoreo de las reacciones y la pureza de los compuestos sintetizados se analizaron por cromatografía en capa fina (ccf), utilizando placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60, GF254 (Merck). Para visualizar los cromatogramas se empleó una lámpara de luz ultravioleta UVP Inc. modelo UVGL-25. Las fases móviles empleadas fueron. CHCl₃/MeOH (80:20), CHCl₃/MeOH (90:10), CHCl₃/MeOH (50:50).

Reactivos y disolventes

A continuación se muestran los reactivos y disolventes ocupados durante el desarrollo del trabajo experimental, así como las marcas a las que corresponden.

| Reactivos y disolventes | Marca |
|--|---------------|
| Acetato de etilo | J.T.Baker |
| Ácido nicotínico | Sigma-Aldrich |
| 4-aminometil benzoato de metilo | Aldrich |
| 1,1-carbonildiimidazol | Aldrich |
| Carbonato de sodio | Barsa |
| Clorhidrato de L-argininato de metilo | Sigma-Aldrich |
| Clorhidrato de <i>N</i> _ω -Nitro-L-argininato de metilo | Sigma-Aldrich |
| 7-cloro-4-hidrazinoquinolina | Aldrich |
| Cloroformo | J.T.Baker |
| Cloruro de amonio | J.T.Baker |
| Hidrosulfito de sodio (Na ₂ S ₂ O ₄) | Sigma-Aldrich |
| L-arginina | Aldrich |
| <i>N,N</i> -Diisopropiletil amina | Aldrich |
| Dimetilformamida anhidra | Aldrich |
| Metanol | J.T.Baker |
| Ni-Raney | Aldrich |
| Pd/C al 10% | Aldrich |
| Tolueno | J.T.Baker |
| Trietilamina | J.T.Baker |

Síntesis del 5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1)

En un matraz bola de 100mL de dos bocas, adaptado con una columna vigoaux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 310 mg (0.0019 moles) de 1,1-carbonildiimidazol, 215 mg de ácido nicotínico (0.0017moles) y 5 mL de dimetilformamida anhidra. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 5 horas, a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo de reacción, se agregaron 476 mg (0.0018 moles) de clorhidrato de *N_ω*-Nitro-L-argininato de metilo y 0.3 mL (0.0017 moles) de *N,N*-Diisopropiletilamina (DIPEA). La mezcla se dejó en agitación durante 12 horas, a temperatura ambiente.

Terminada la reacción, se concentró la dimetilformamida, obteniéndose 1.015g de un aceite de color ámbar. El compuesto se purificó por cromatografía en columna con un sistema cloroformo/metanol (80:20).

El producto final fue un aceite de color amarillo (306.5 mg), cuyo rendimiento corresponde al 51.4% y con un R_f de 0.46 en el sistema cloroformo/metanol (80:20).

Síntesis del 5-carbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (2)

En un matraz bola de 100mL de dos bocas, adaptado con una columna vigroaux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 310 mg (0.0019 moles) de 1,1-carbonildiimidazol, 217 mg de ácido nicotínico (0.0017moles) y 5 mL de dimetilformamida anhidra. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 5 horas, a temperatura ambiente.

Trascurrido el tiempo, se agregaron 471mg (0.0018 moles) de clorhidrato de L-argininato de metilo y 0.3 mL (0.0018 moles) *N,N*-Diisopropiletilamina(DIPEA). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 12 horas, a temperatura ambiente.

Terminada la reacción, se procedió a concentrar la dimetilformamida, obteniéndose 1g de un aceite de color ámbar. El compuesto se purificó por cromatografía en columna flash con una mezcla de cloroformo/metanol (95:5).

Se obtuvo un aceite de color amarillo (238.11mg), cuyo rendimiento corresponde al 45.1% y con un R_f de 0.42 en el sistema cloroformo/metanol (80:20).

Síntesis del ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3- ilcarbonil)amino] pentanoico (3)

En un matraz bola de 100mL de dos bocas, adaptado con una columna vigoaux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 575.3 mg (0.0035 moles) de 1,1-carbonildiimidazol, 400.3 mg de ácido nicotínico (0.0032 moles) y 5 mL de dimetilformamida anhidra. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 5 horas, a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo se agregaron 569.8 mg (0.0032 moles) de L-arginina. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 24 h a 50°C.

Terminado el tiempo de reacción, la suspensión resultante separó por filtración al vacío. El sólido separado no absorbía bajo la luz UV en la cromatografía en capa delgada. Del filtrado se evaporó la dimetilformamida, obteniéndose 1.44g de un aceite de color amarillo. El compuesto se purificó por cromatografía en columna flash con una mezcla de cloroformo/metanol (60:40).

Se obtuvo un aceite de color amarillo claro (276.1mg), cuyo rendimiento corresponde al 30.4% y con un R_f de 0.31 en el sistema cloroformo/metanol (50:50).

Síntesis del 4-[[piridin-3-ilcarbonil]amino]metil]benzoato de metilo (4)

En un matraz bola de 100mL de dos bocas, adaptado con una columna vigroaux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 545.1 mg (0.0033 moles) de 1,1-carbonildiimidazol, 378.1mg de ácido nicotínico (0.003moles) y 5 mL de dimetilformamida anhidra. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 5 horas a una temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo, se agregaron 625.5 mg (0.0036 moles) de clorhidrato de 4-(aminometil)benzoato de metilo y 0.6 mL de DIPEA. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 8 horas a temperatura ambiente.

Terminada la reacción, se procedió a concentrar la dimetilformamida, obteniéndose 1.6g de un aceite de color amarillo.

Posteriormente al aceite de color amarillo se le agregó una solución de K_2CO_3 (pH=13) con la cual se formó un precipitado de color amarillo claro; la suspensión formada se filtro en un matraz büchner y se lavó tres veces con agua.

El sólido obtenido se recrystalizó de tolueno. Se obtuvo 759.2mg de un sólido fino color blanco, cuyo rendimiento corresponde al 90.6%; presentando un punto de fusión de 136.1-136.4°C; y con un R_f de 0.40 en el sistema cloroformo/metanol (90:10)

Síntesis de N-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)

En un matraz bola de 100mL de dos bocas, adaptado con una columna vigroaux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 287.6 mg (0.0017 moles) de 1,1-carbonildiimidazol, 200.5 mg de ácido nicotínico (0.0016 moles) y 5 mL de dimetilformamida anhidra. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 5 horas a una temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo, se agregan 318.7 mg (0.0016 moles) de 7-cloro-4-hidrazinoquinolina. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 8 horas a temperatura ambiente.

Terminada la reacción, se procedió a concentrar la dimetilformamida, obteniéndose 1.2g de un aceite de color café oscuro.

Posteriormente al aceite café oscuro obtenido se le agregó 10mL de acetato de etilo con lo que se formó un precipitado de color anaranjado, que se separó por filtración al vacío.

El sólido naranja se recristalizó de metanol. Se obtuvo un sólido fino de color anaranjado (388.1mg), cuyo rendimiento corresponde al 81.2%; un punto de fusión de 247.5-247.9°C; y un R_f de 0.50 en el sistema cloroformo/metanol (80:20).

APÉNDICE 2.
ESPECTROS

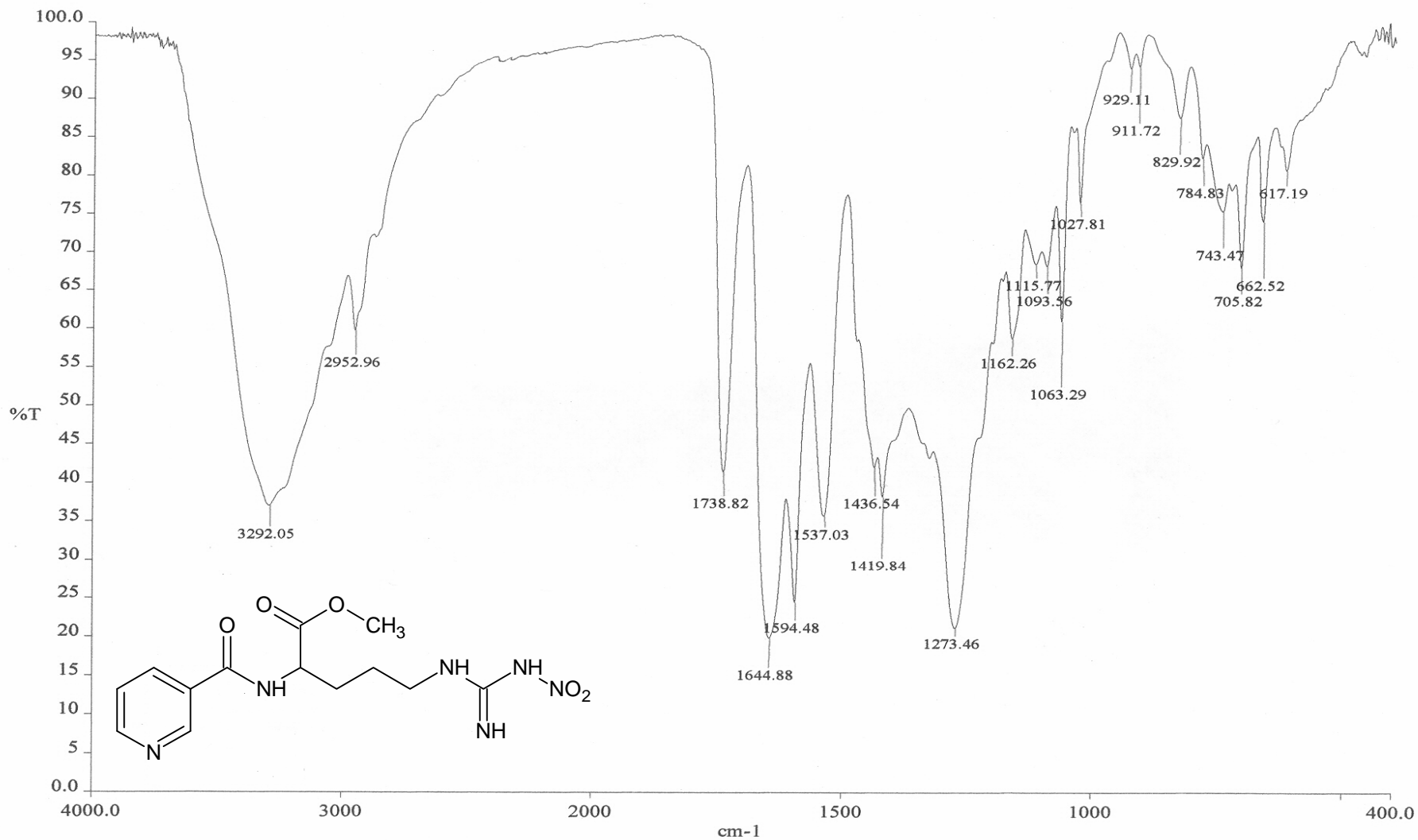
Apéndice 2. Espectros

Instrumentación

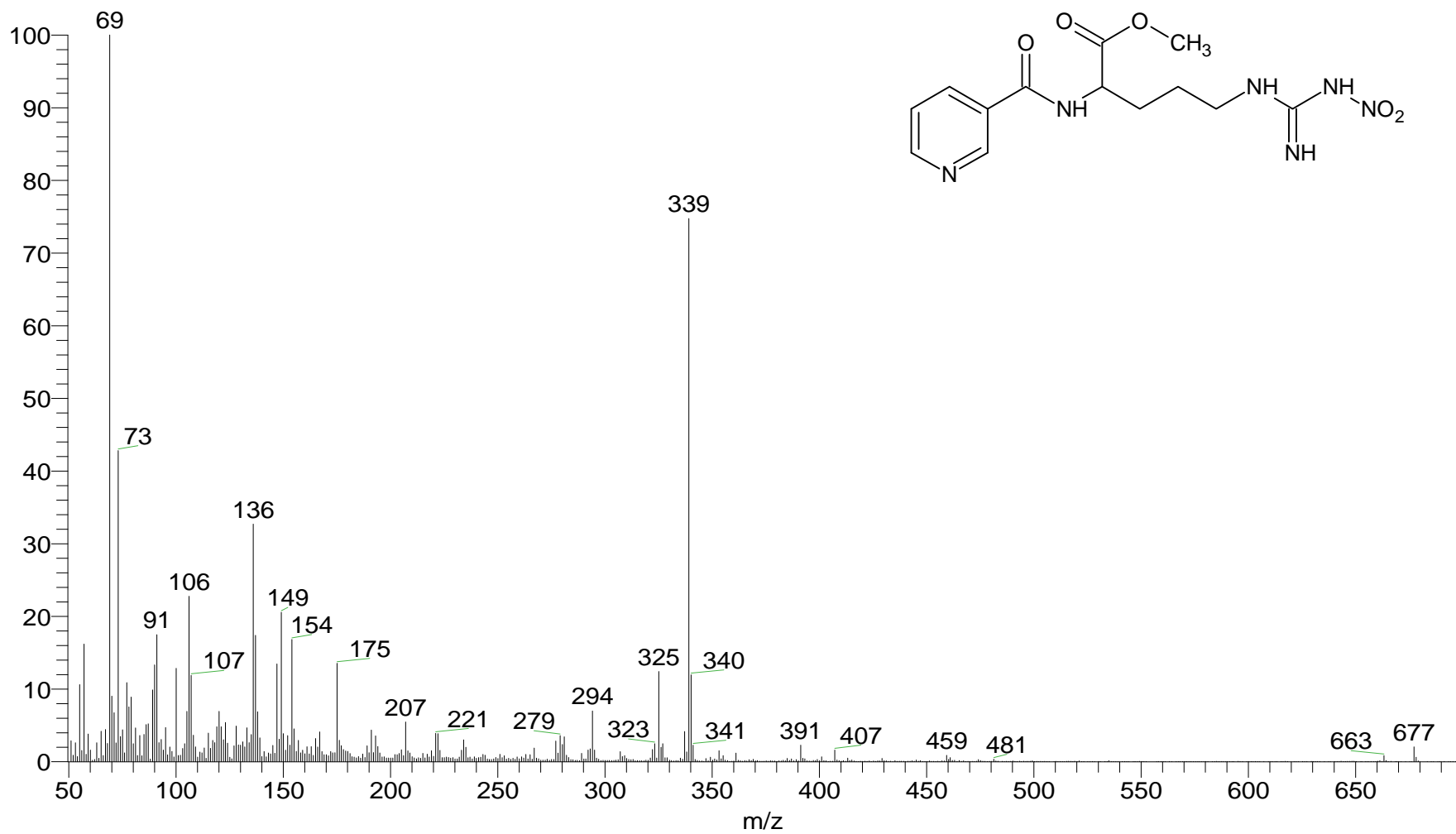
Los espectro de infrarrojo (IR) se elaboraron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer de transformadas de Fourier modelo FT-IR 1605.

Los espectros de masas se hicieron en un espectrómetro Jeol modelo SX-102 A. El método de ionización fue impacto electrónico a 70eV o bombardeo de átomos rápidos usando glicerol como matriz.

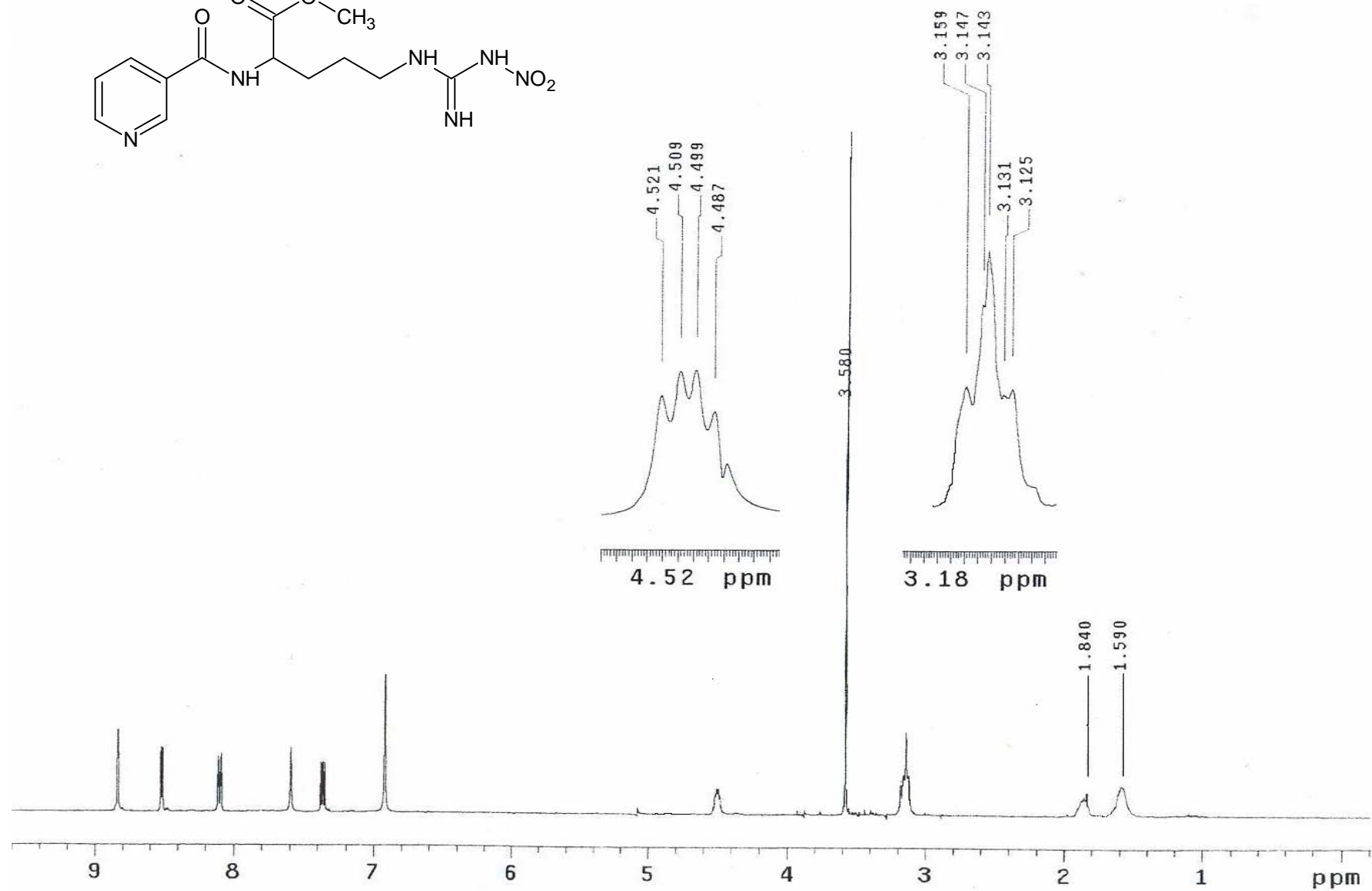
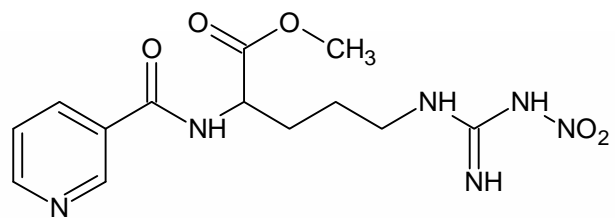
Los espectros de resonancia magnética protónica (RMN -¹H) se corrieron a 400 MHz y los resonancia magnética de carbono 13 (RMC-¹³C) a 75 MHz, en un espectrofotómetro Varian modelo Unity Inova. Usando tetrametilsilano como referencia interna.



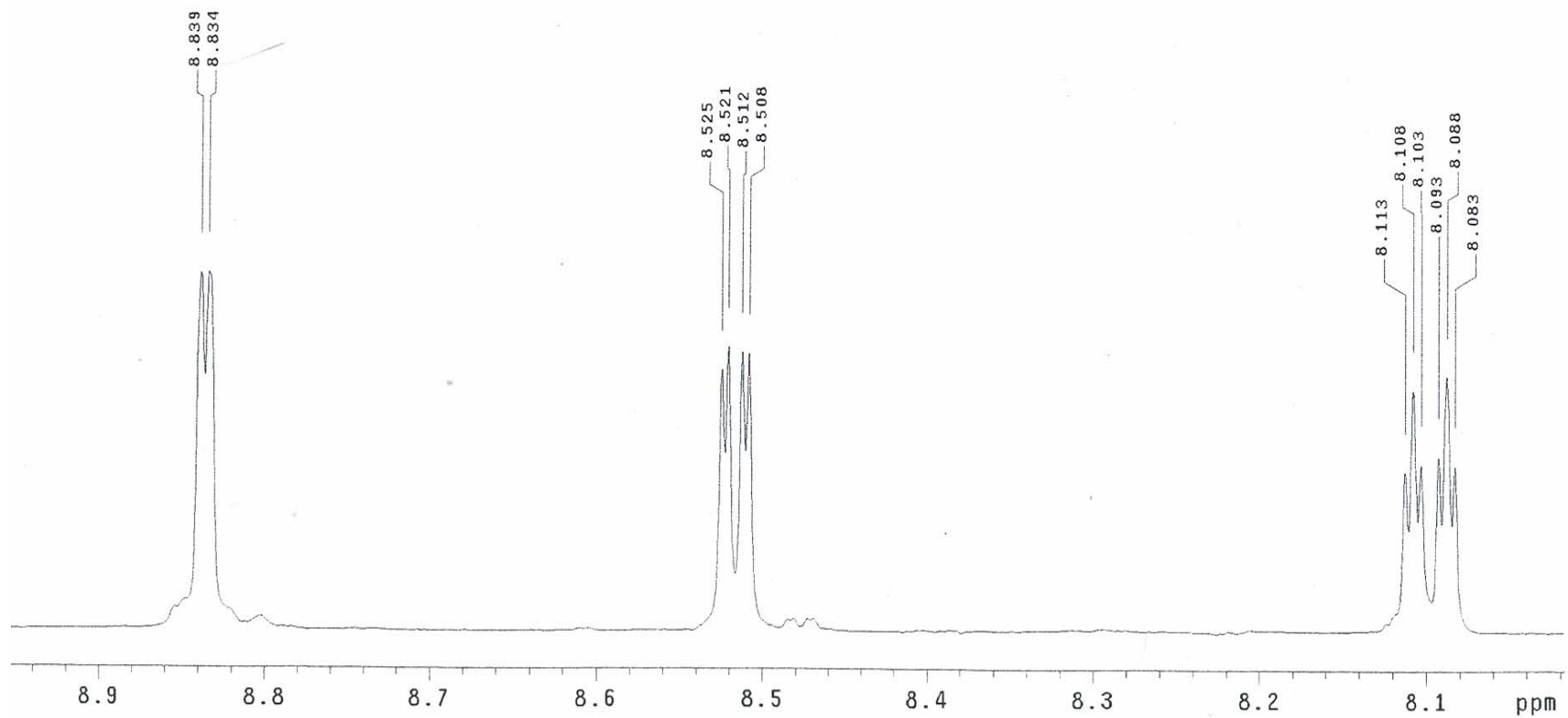
Espectro 1 IR del 5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1)



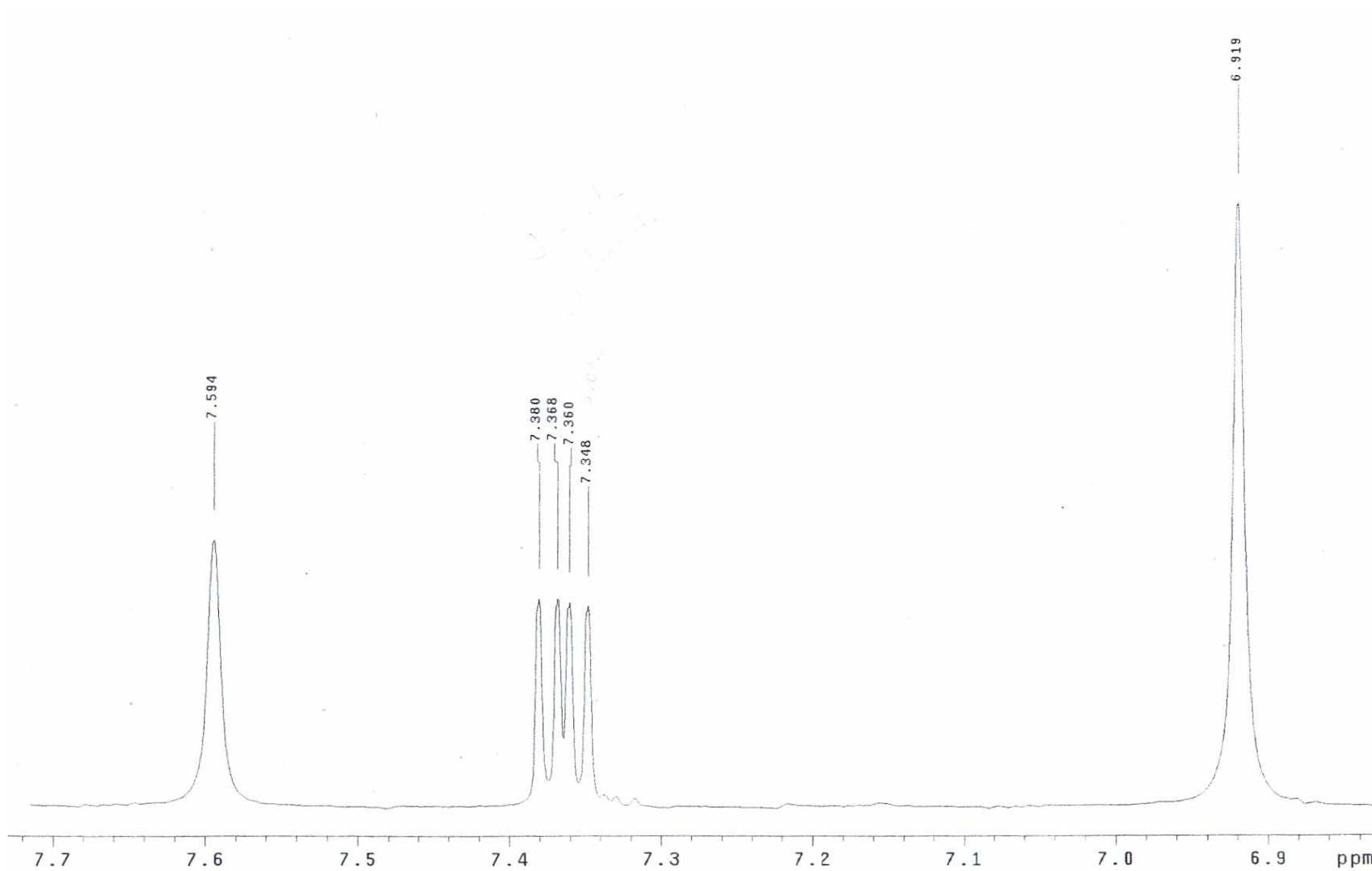
Espectro 2 EM del 5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1)



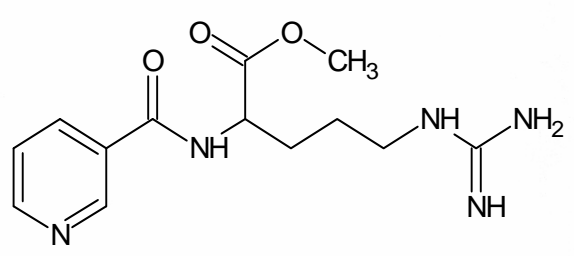
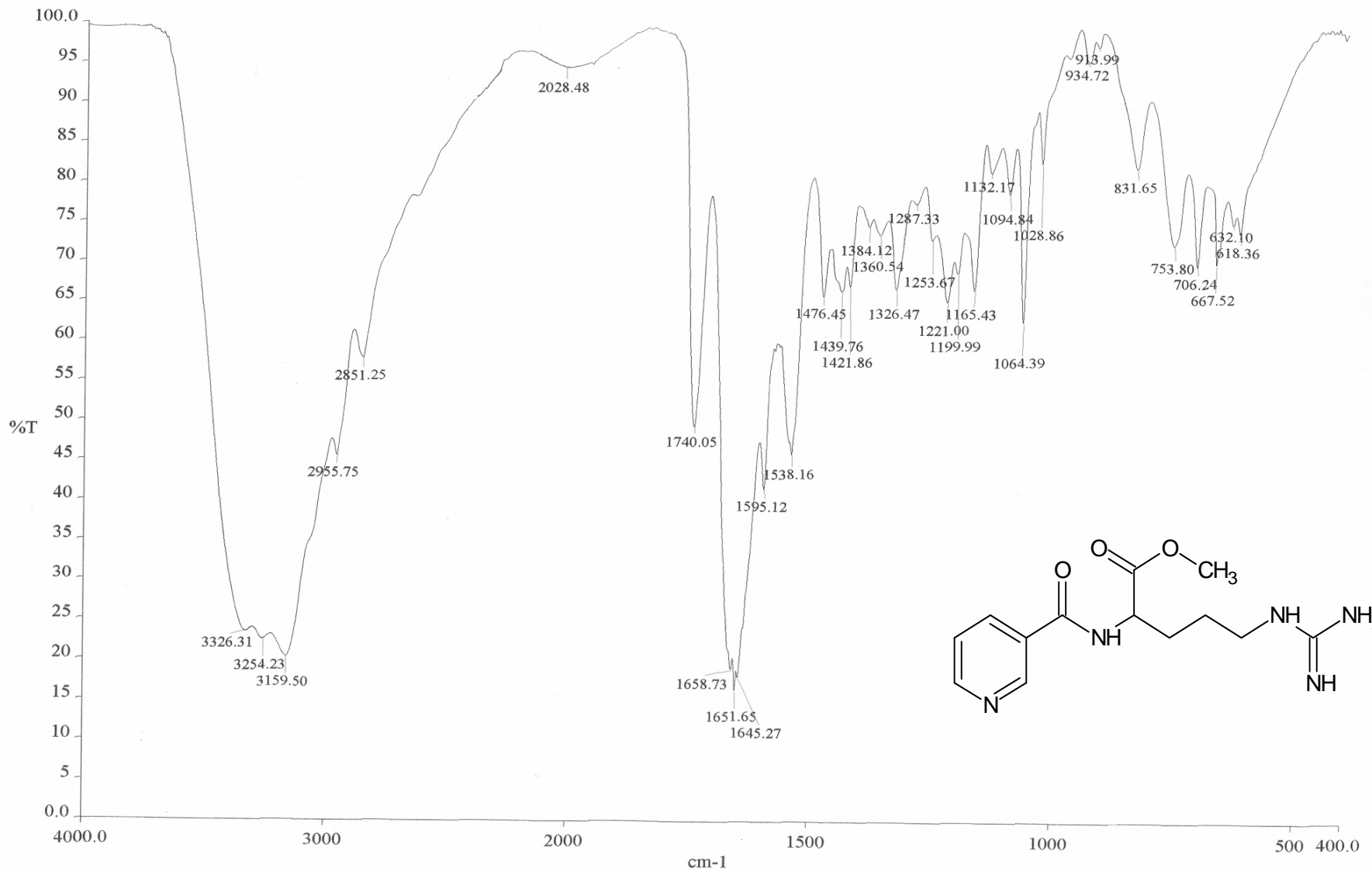
Espectro 3 RMN ¹H del 5-(nitrocarbamimidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1)



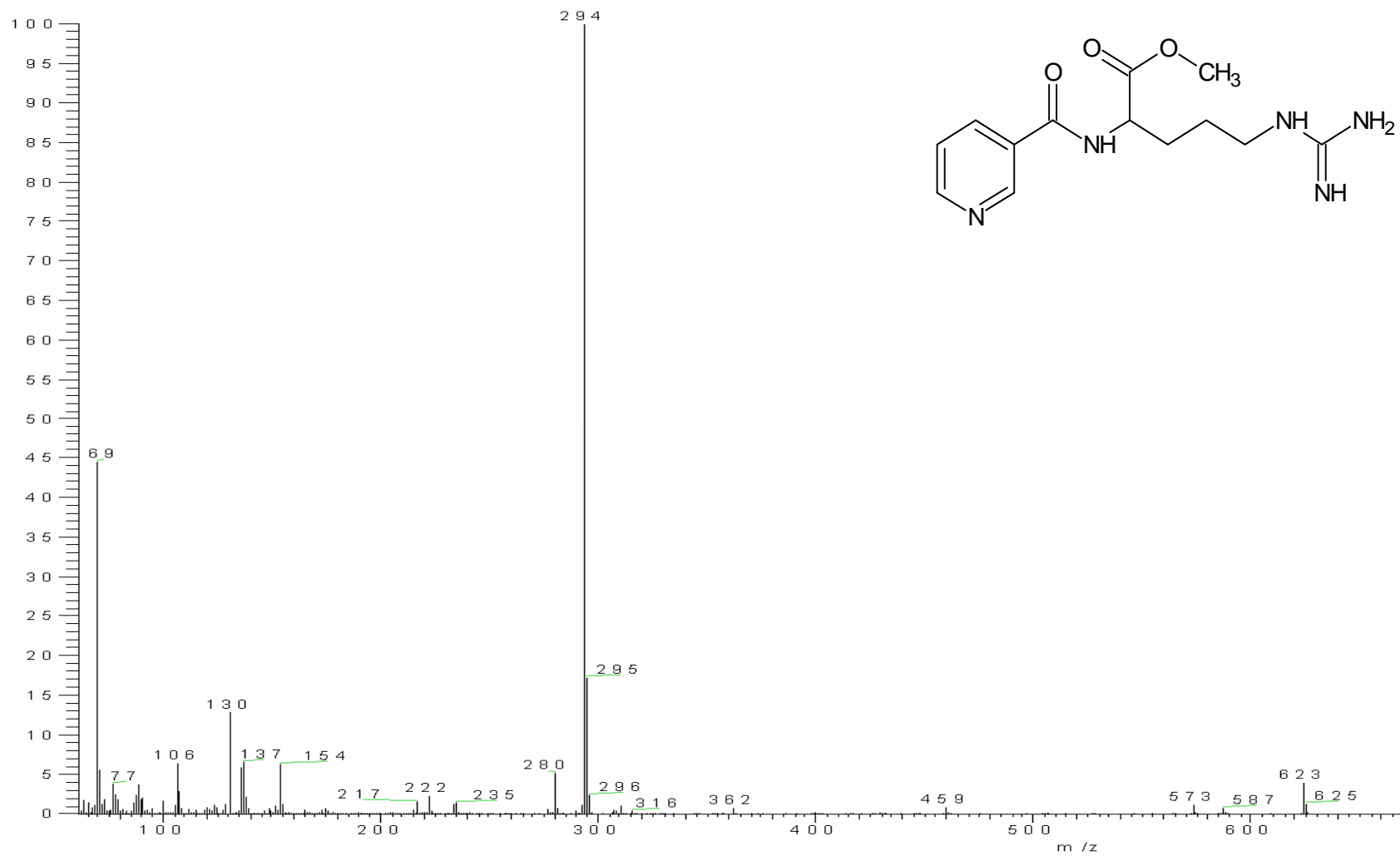
Espectro 3 RMN ^1H del 5-(nitrocarbamidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1)



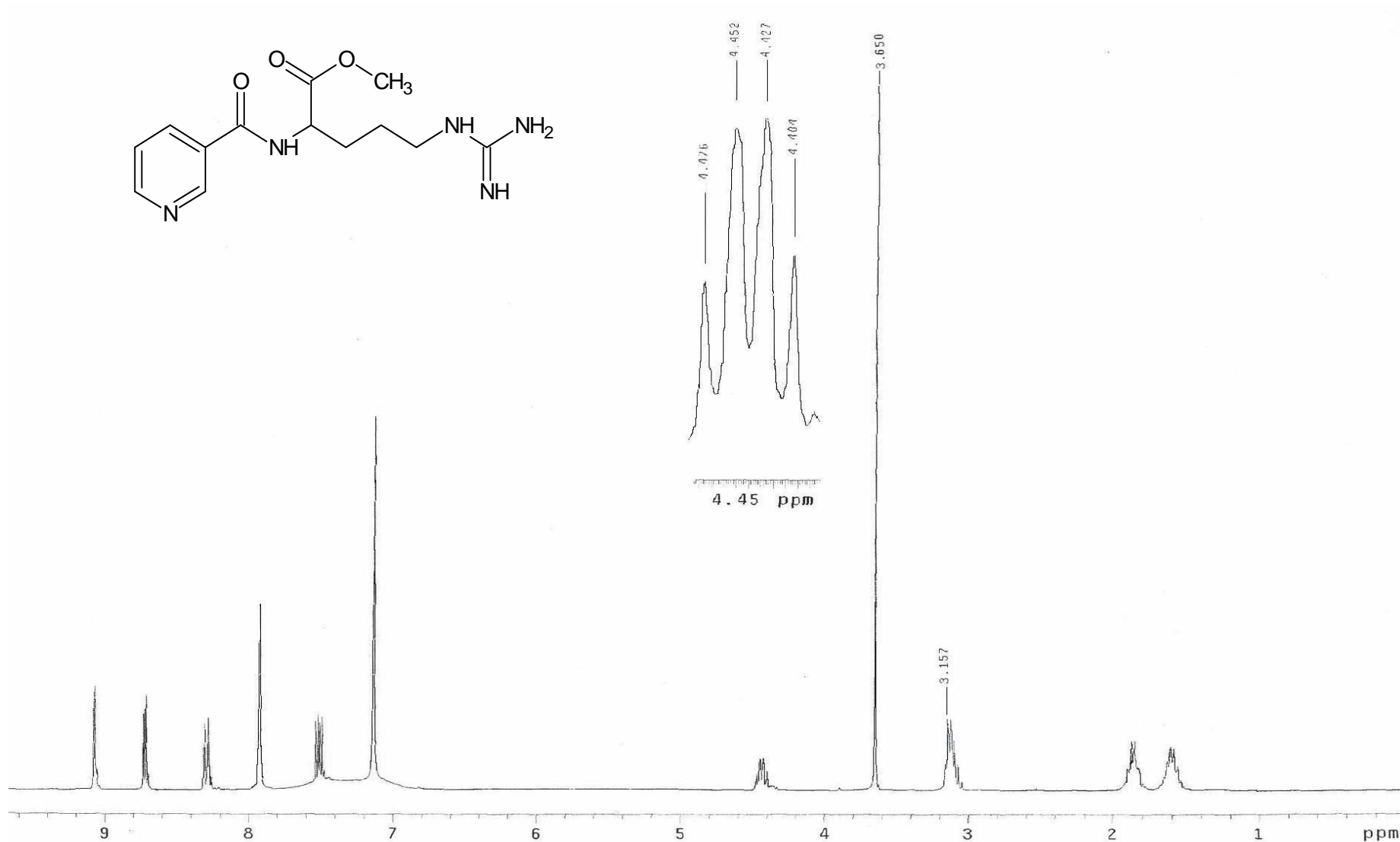
Espectro 3 RMN ^1H del 5-(nitrocarbamidamido)-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (1)



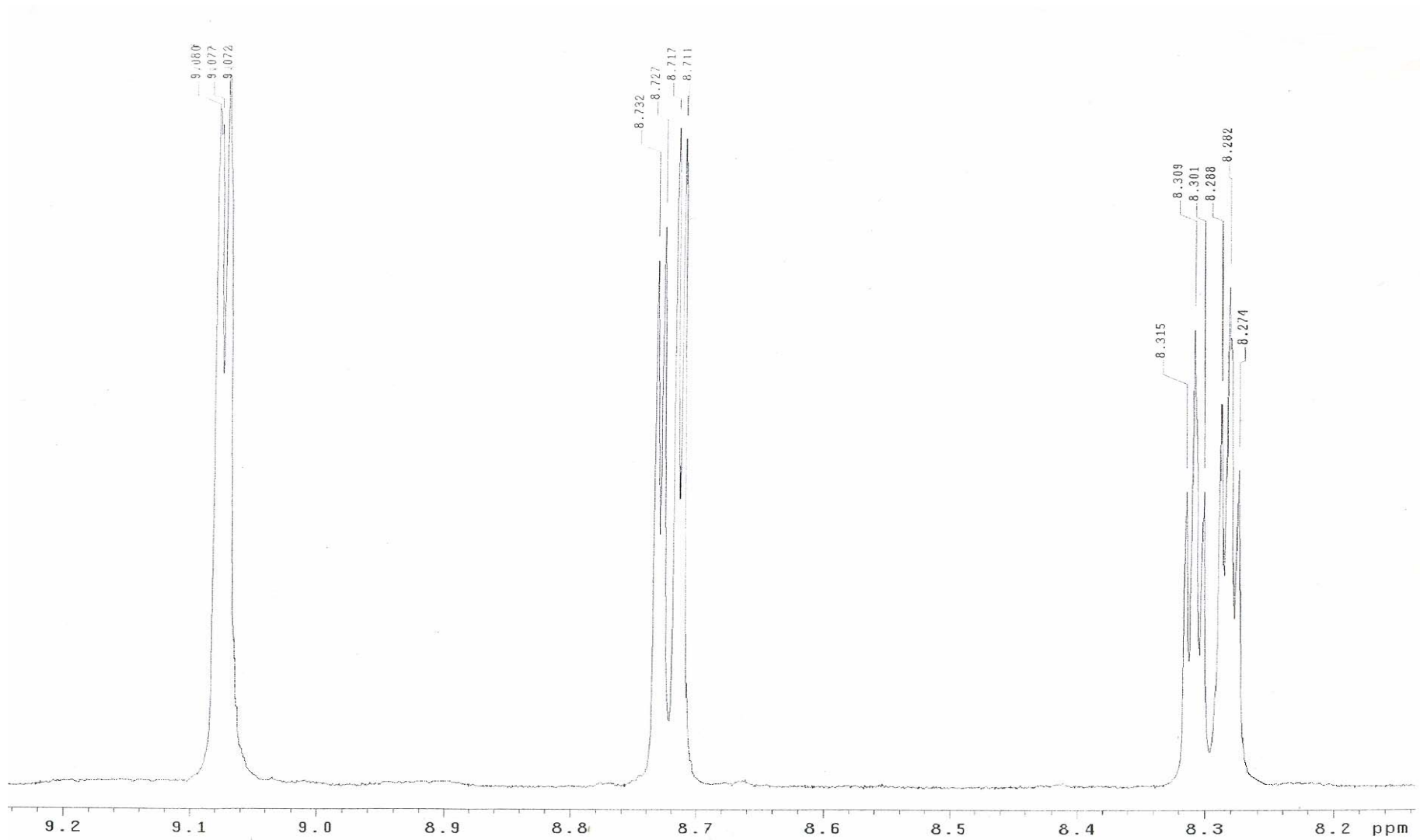
Espectro 4 IR del 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (2)



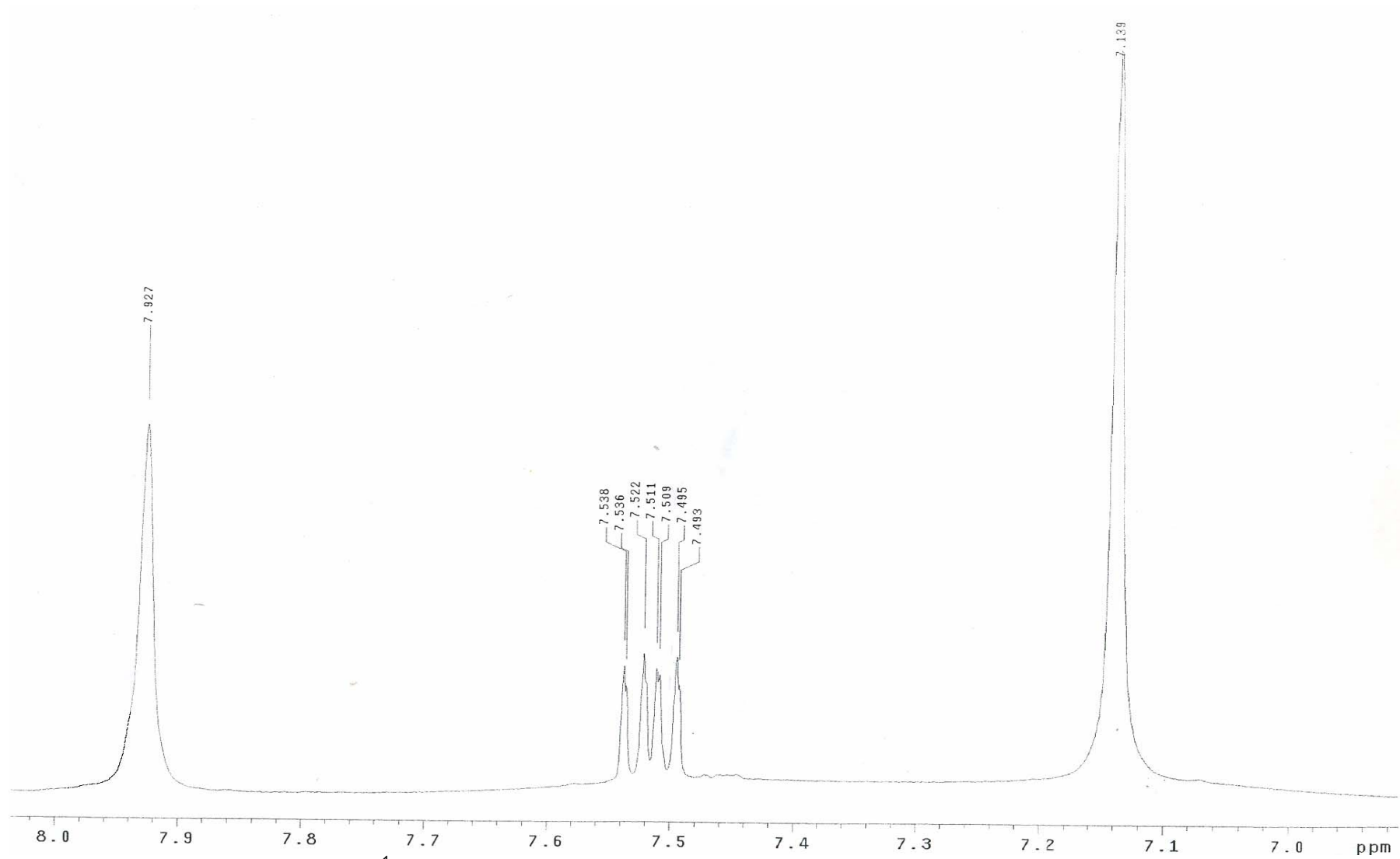
Espectro 5 EM del 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (2)



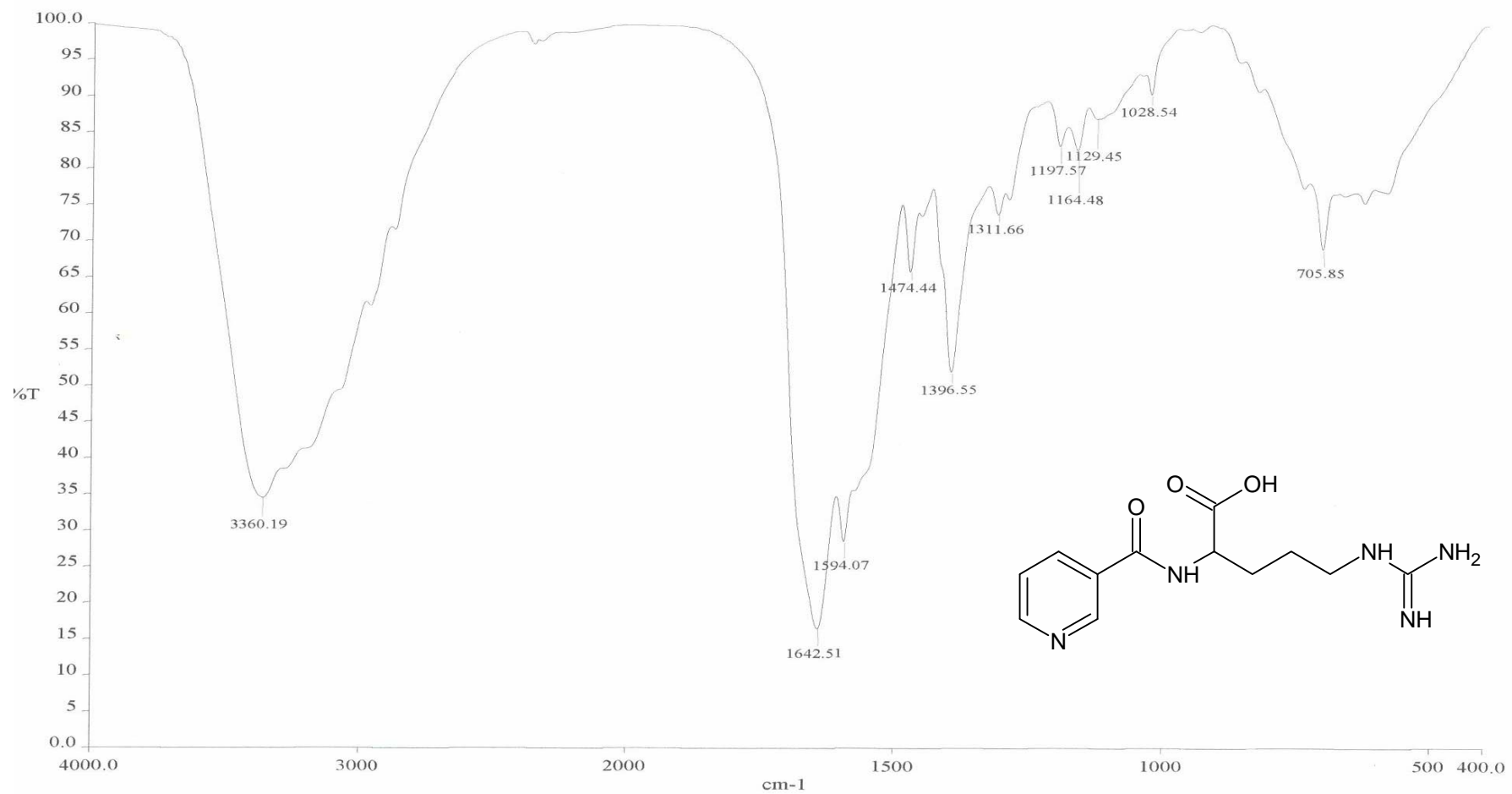
Espectro 6 RMN ¹H del 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonyl)amino] pentanoato de metilo (2)



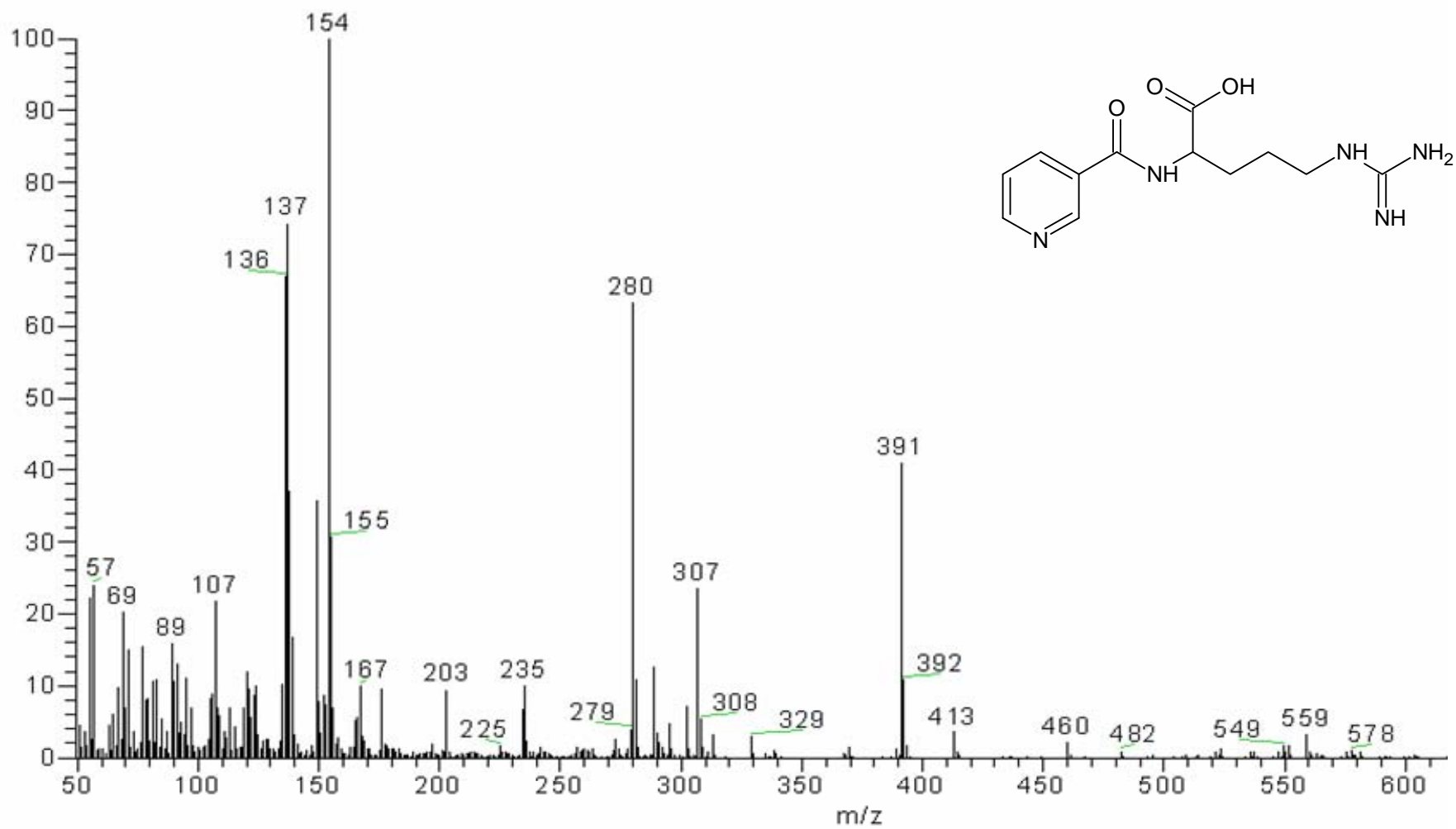
Espectro 6 RMN ¹H del 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (2)



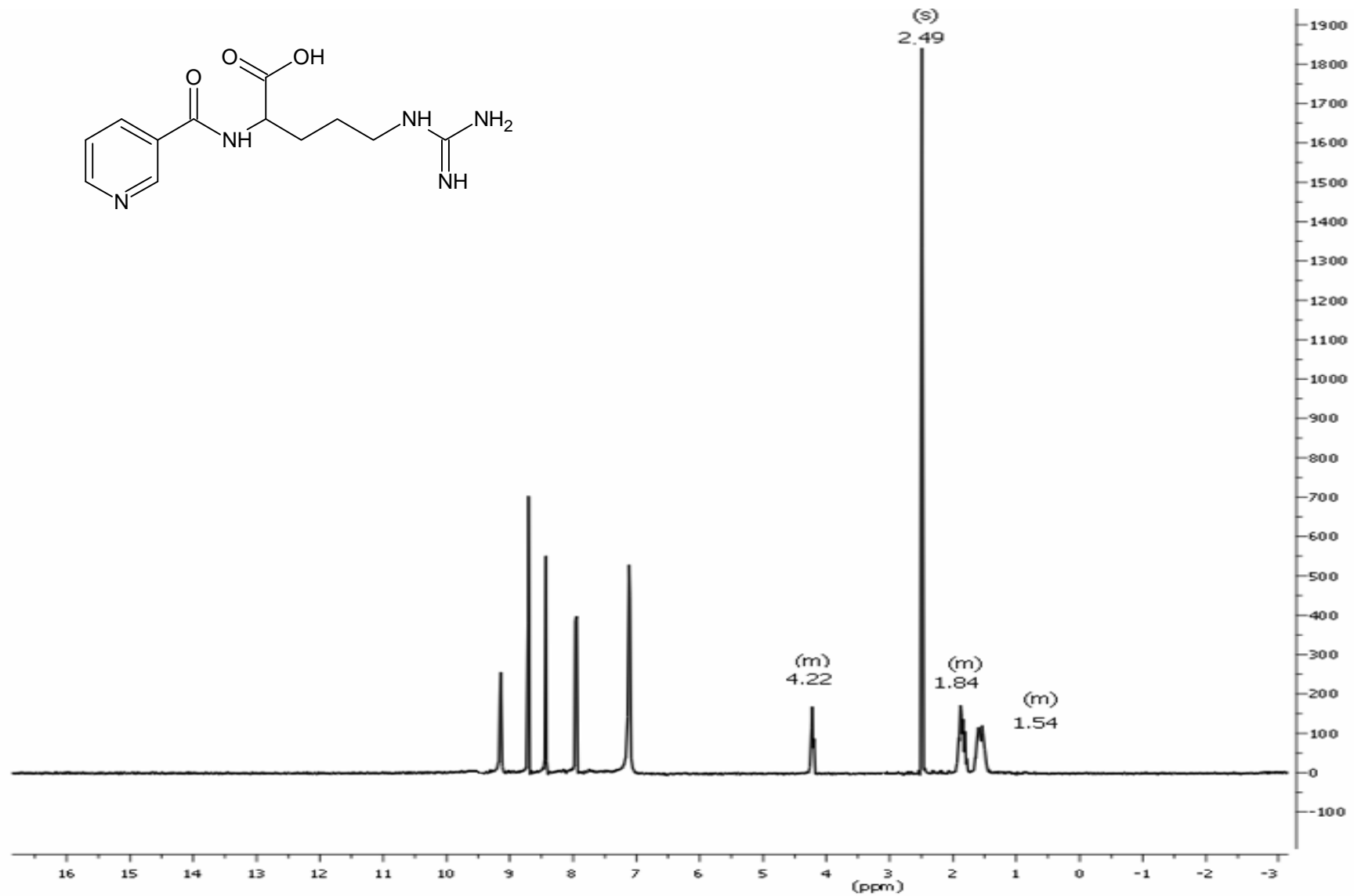
Espectro 6 RMN ¹H del 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino] pentanoato de metilo (2)



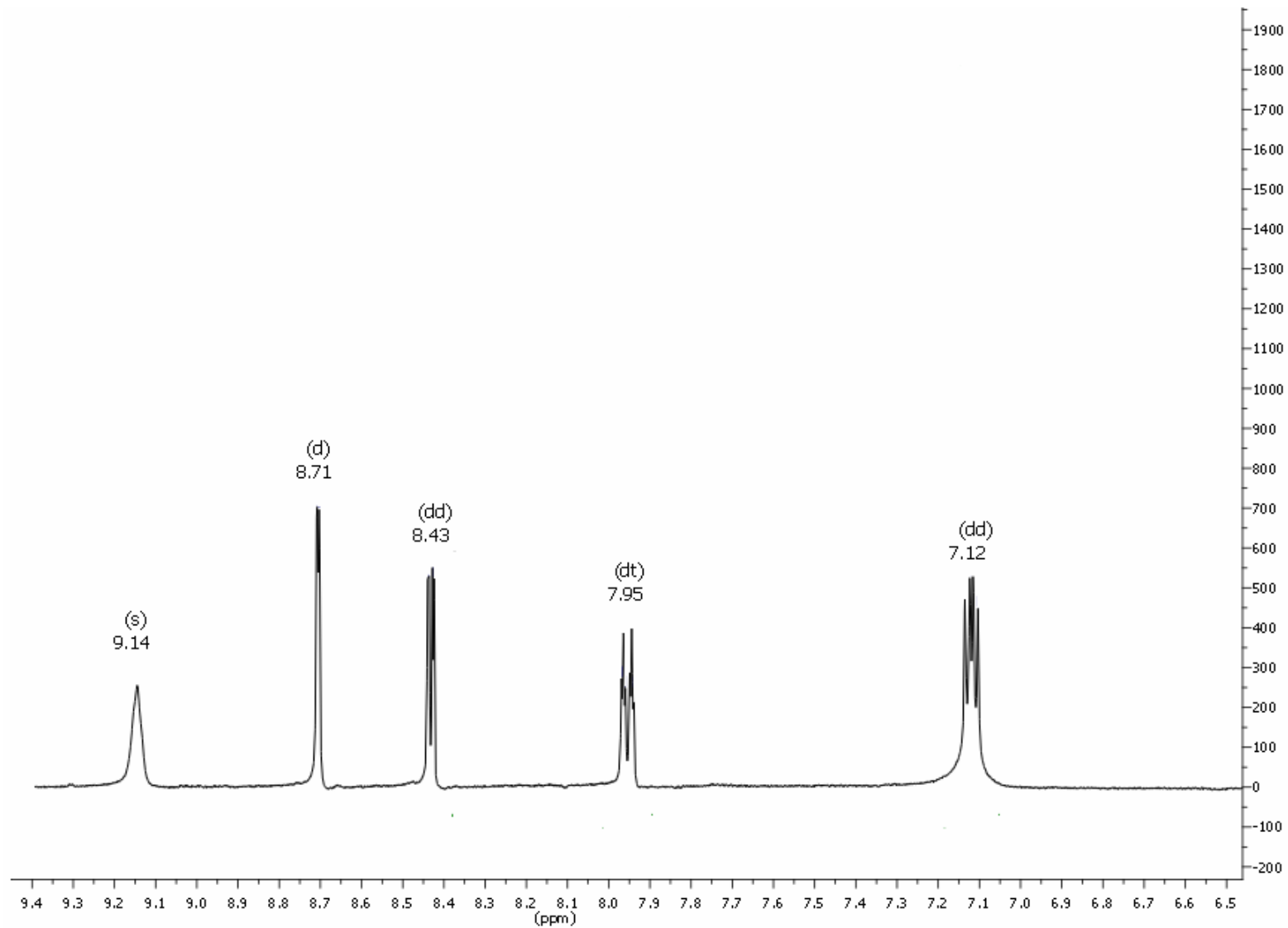
Espectro 7 IR del Ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonyl)amino]pentanoico (3)



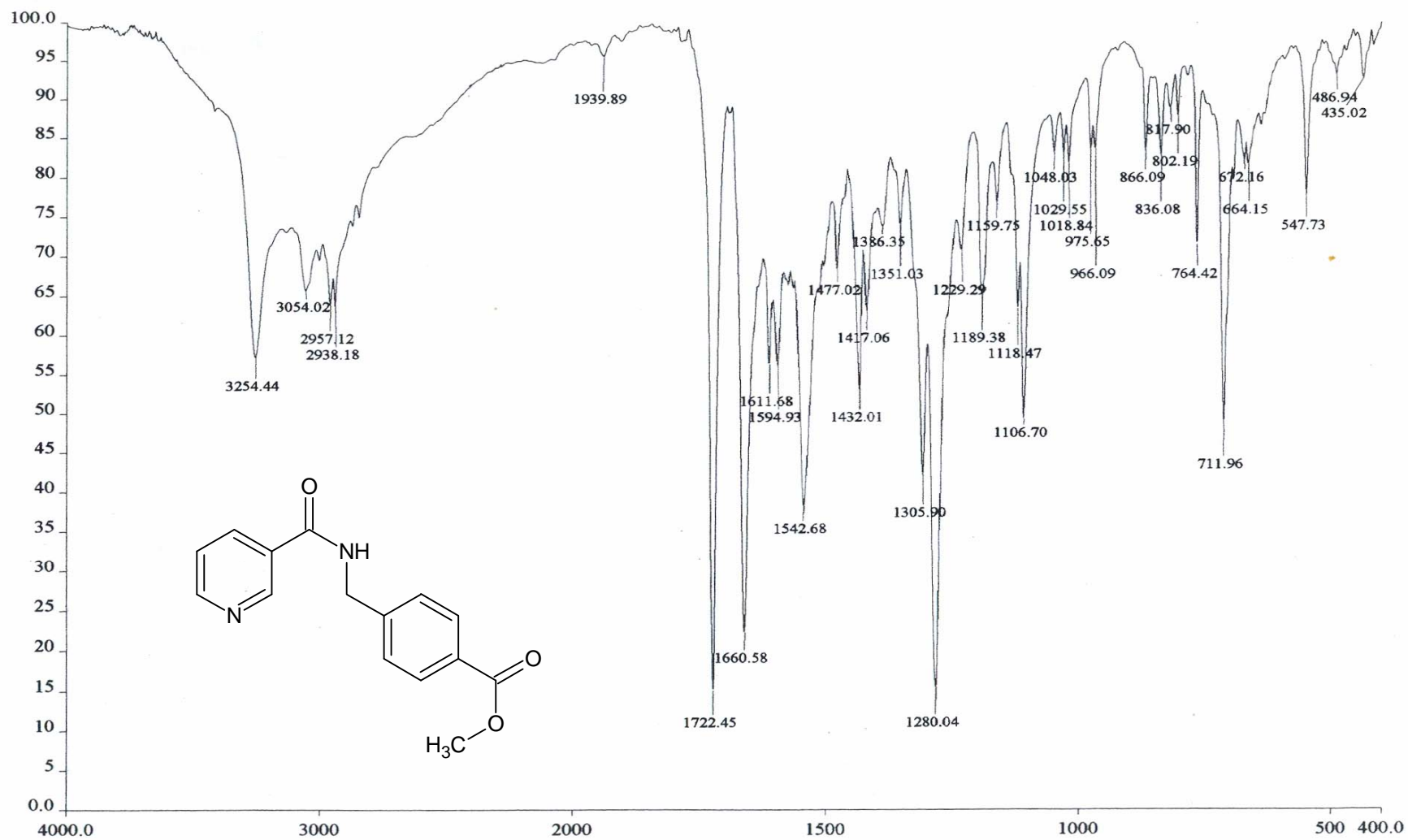
Espectro 8 EM del Ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoico (3)



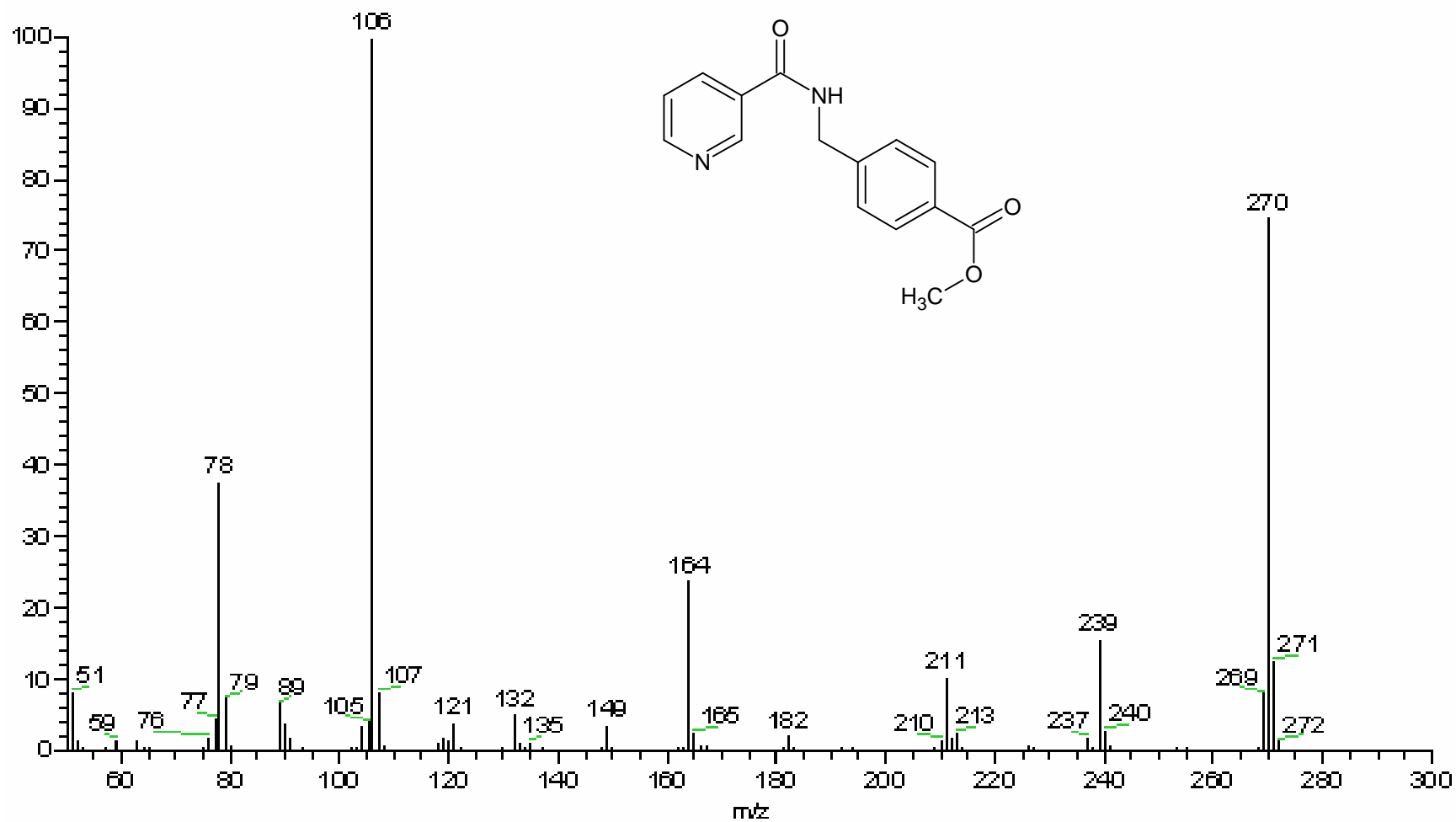
Espectro 9 RMN ¹H del Ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonil)amino]pentanoico (3)



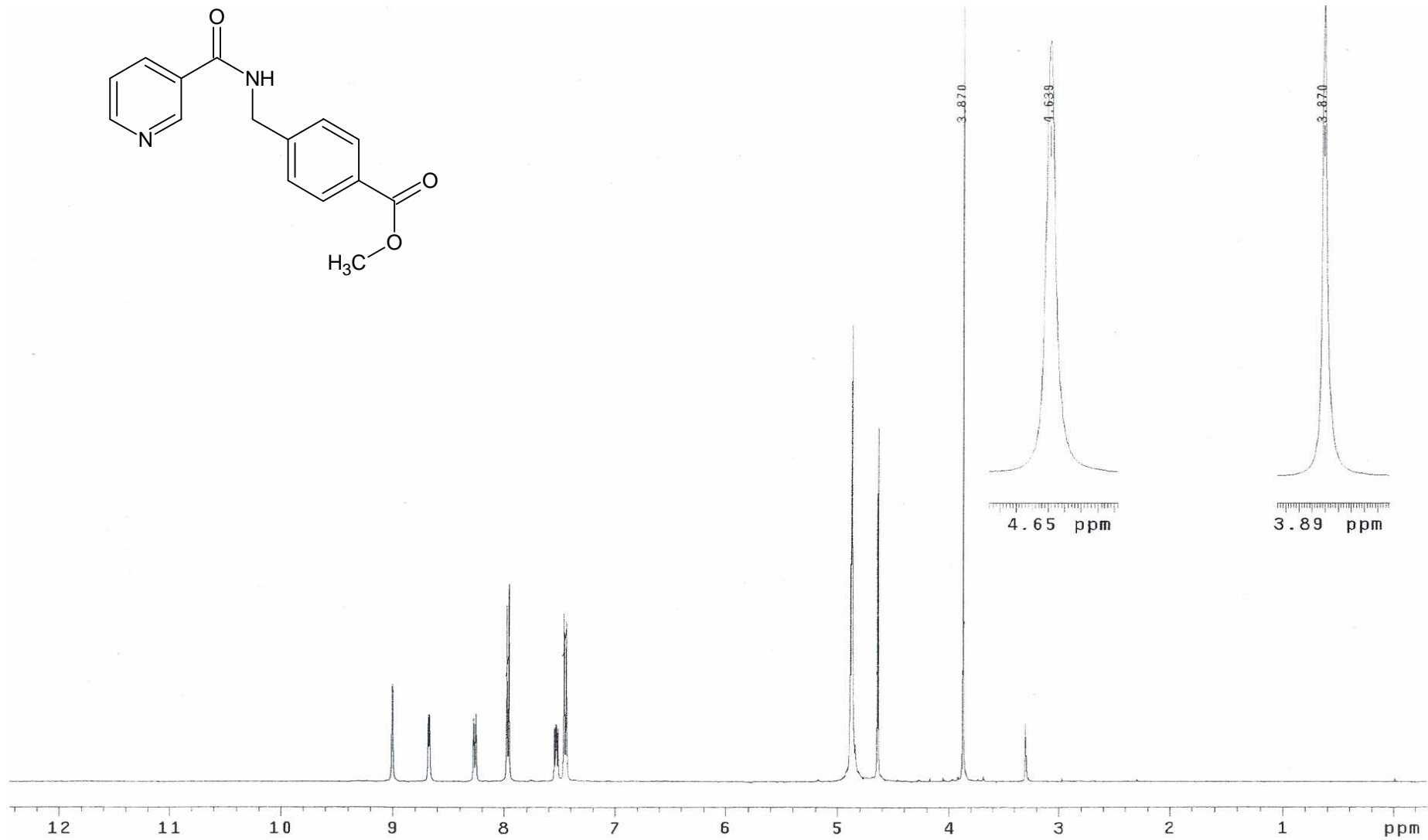
Espectro 9 RMN ¹H del Ácido 5-carbamimidamido-2-[(piridin-3-ilcarbonyl)amino]pentanoico (**3**)



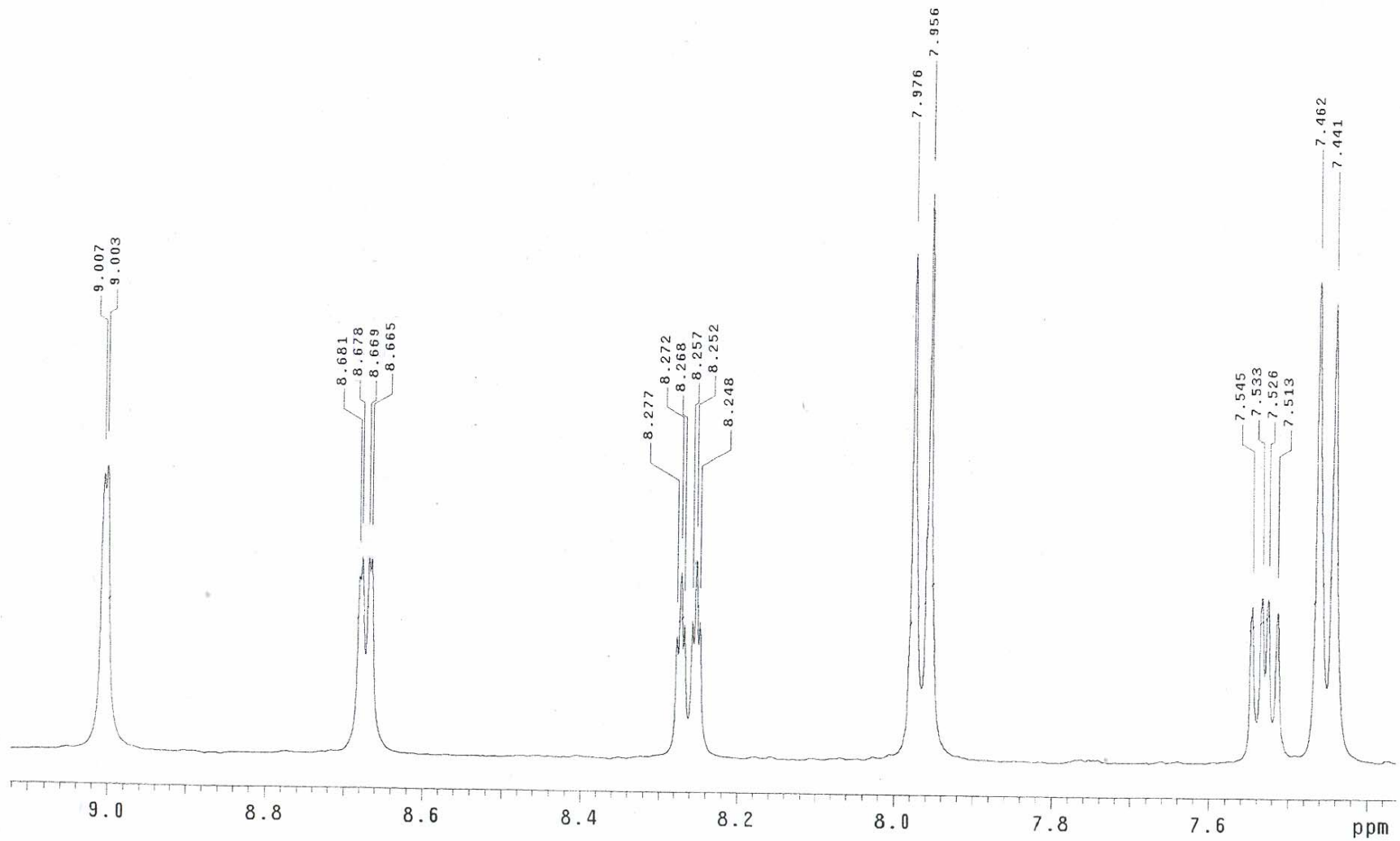
Espectro 10 IR del 4-[[[(piridin-3-ilcarbonil)amino]metil]benzoato de metilo (4)



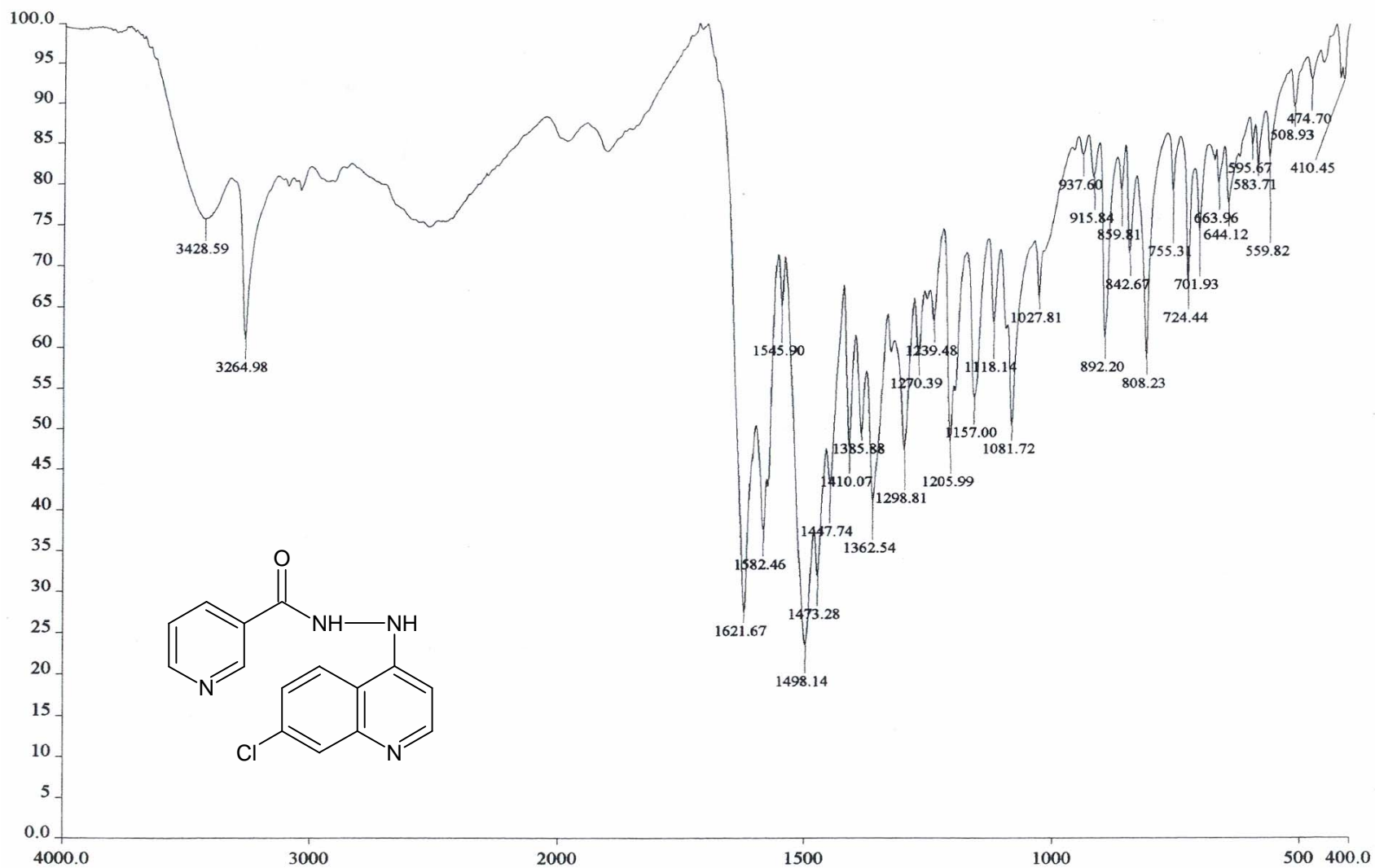
Espectro 11 EM del 4-[[piridin-3-ilcarbonil]amino]metil]benzoato de metilo (4)



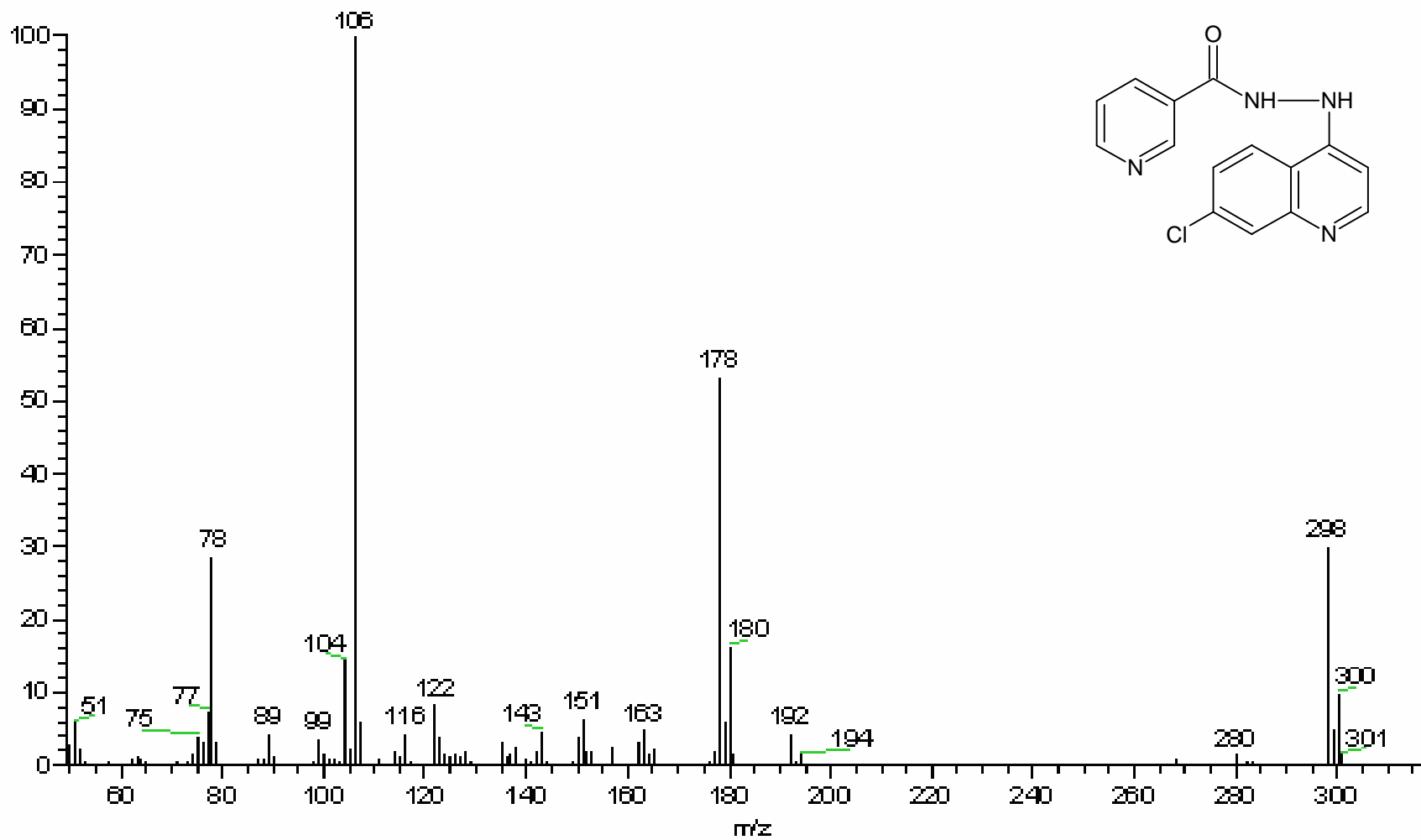
Espectro 12 RMN ¹H del 4-[[piridin-3-ilcarbonil]amino]metil]benzoato de metilo (4)



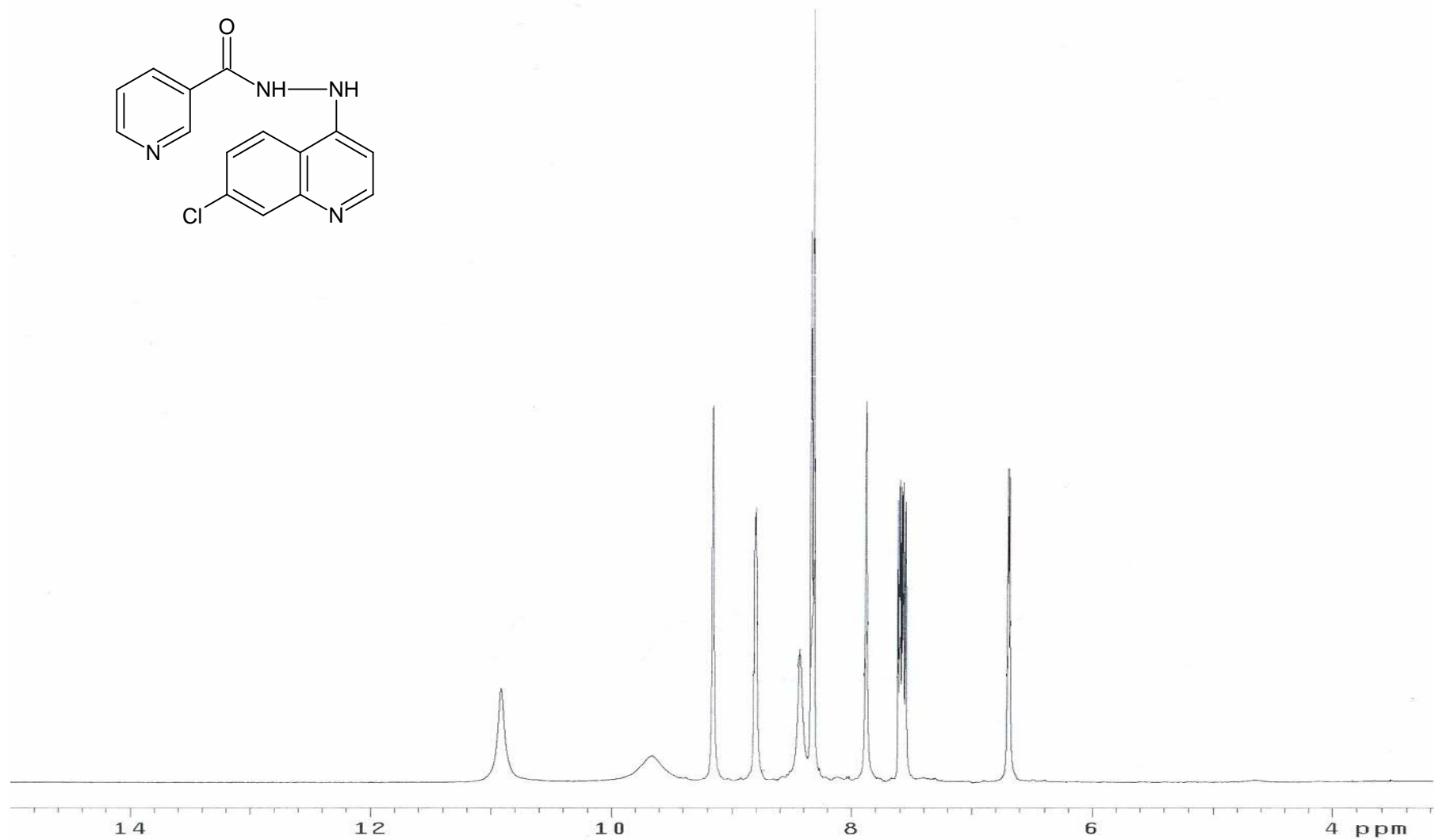
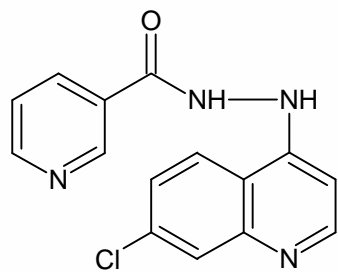
Espectro 12 RMN ¹H del 4-[[piridin-3-ilcarbonil]amino]metil]benzoato de metilo (4)



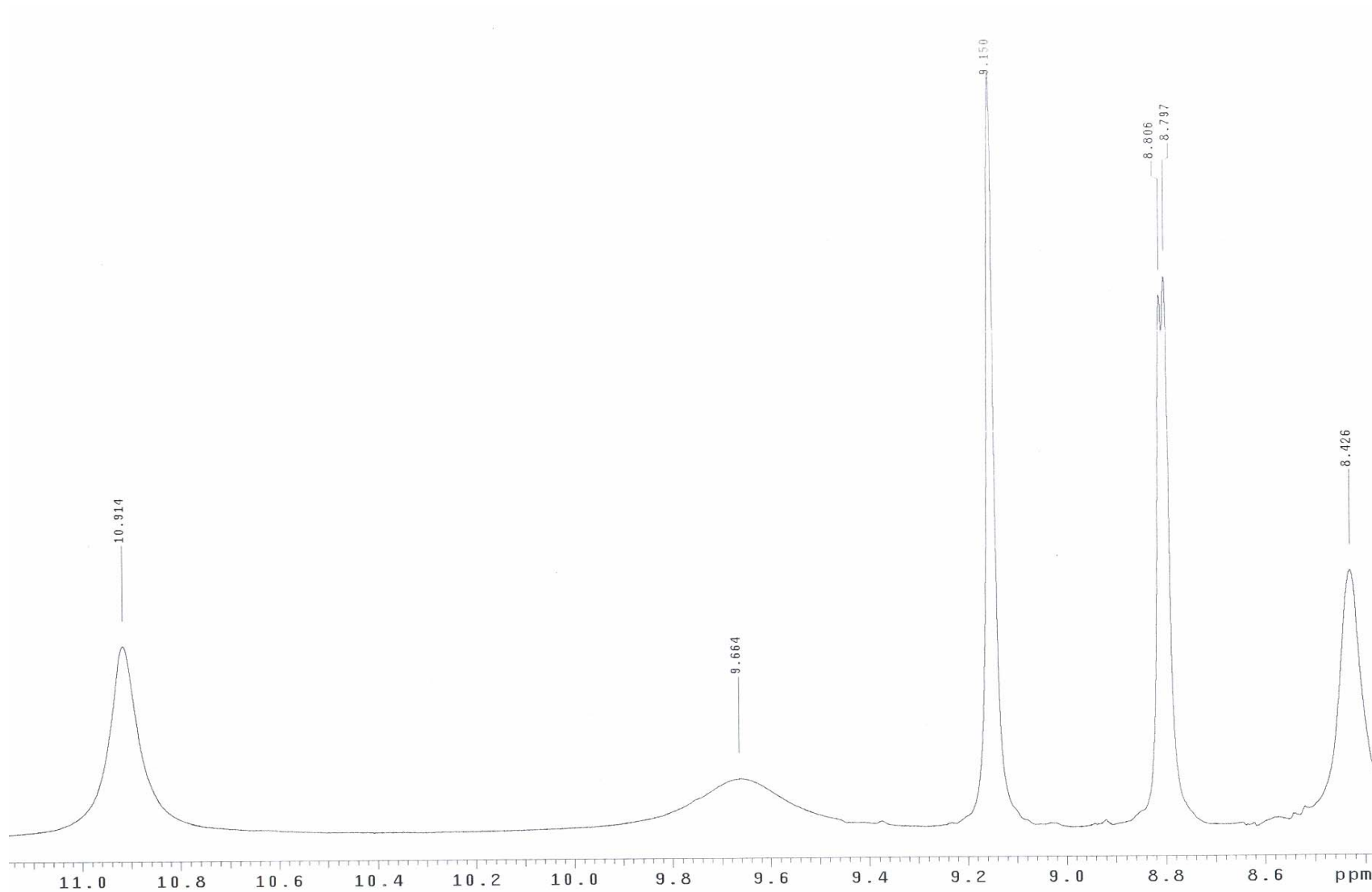
Espectro 13 IR del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)



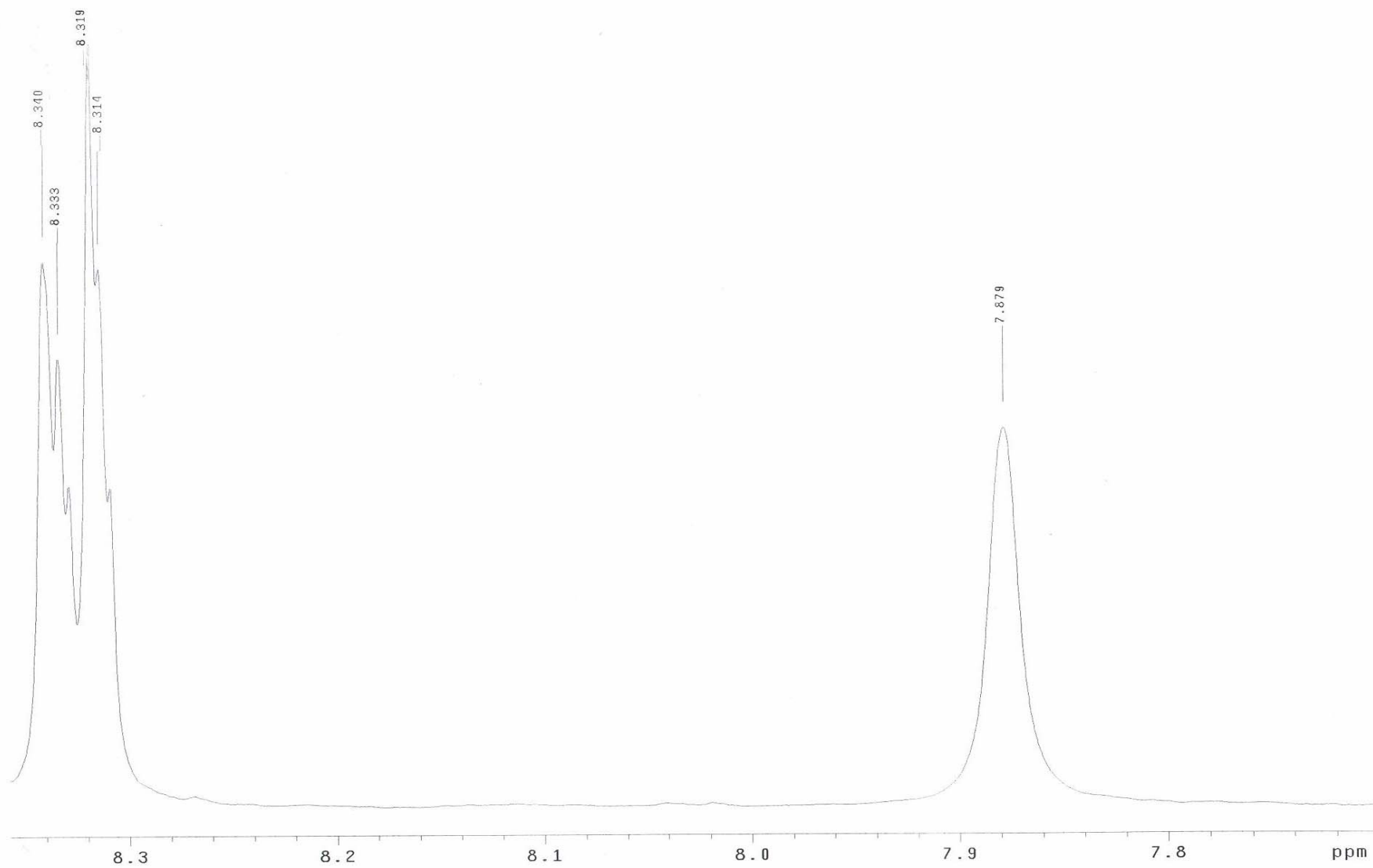
Espectro 14 EM del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)



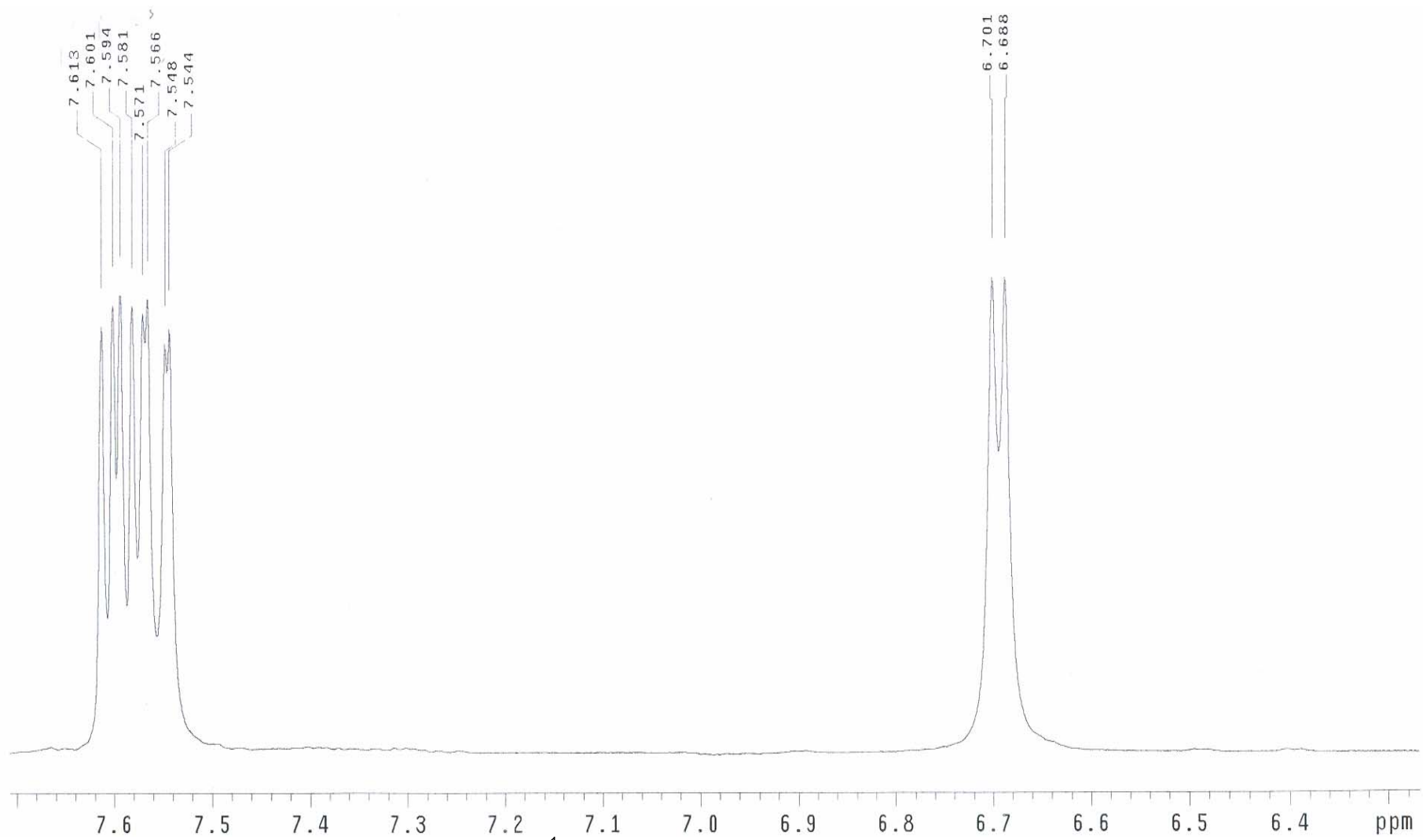
Espectro 15 RMN ¹H del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)



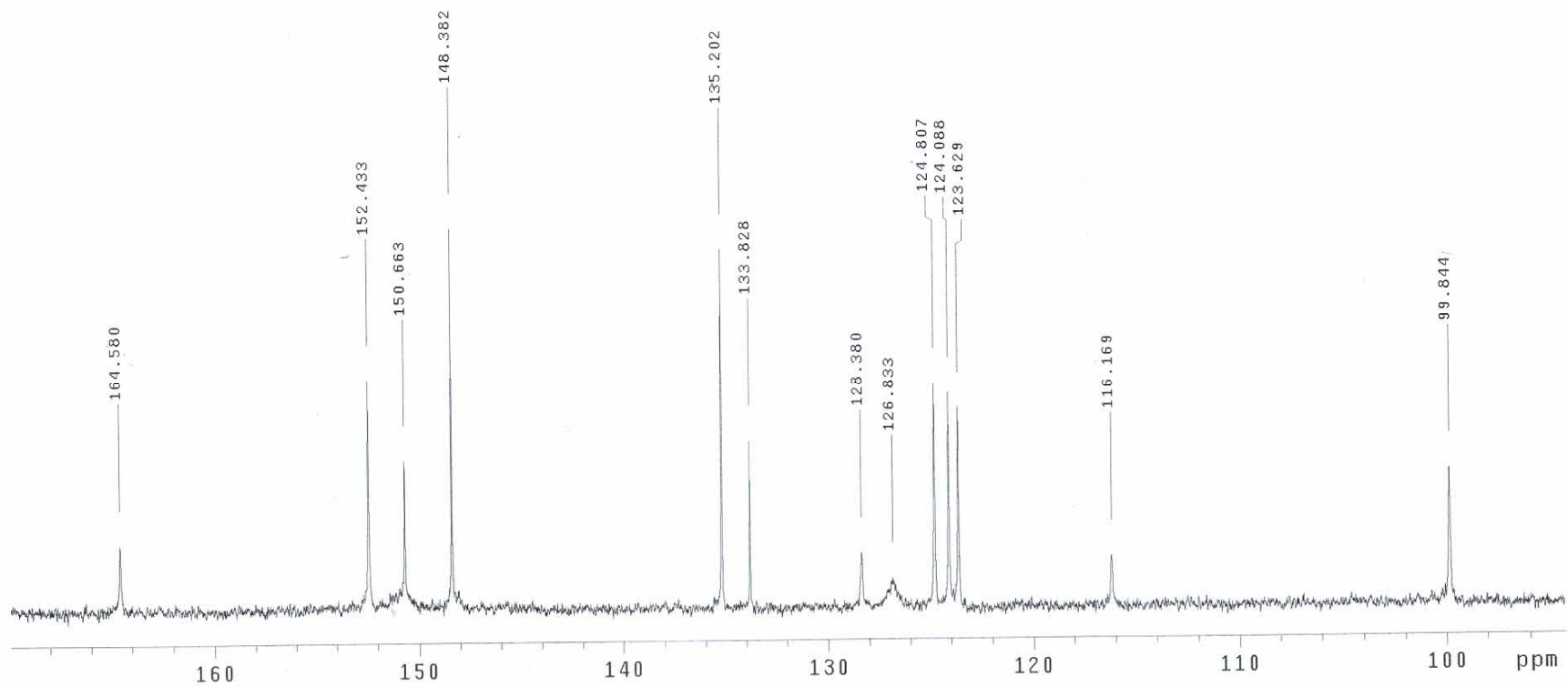
Espectro 15 RMN ^1H del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)



Espectro 15 RMN ¹H del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)



Espectro 15 RMN ¹H del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (5)



Espectro 16 RMN ^{13}C del *N*-(7-cloroquinolin-4-il)nicotinohidrazida (**5**)