

Preparación de nuevos híbridos triazol-(hidroxi)quinolinas como posibles agentes
antifúngicos e insecticidas

Luz Karime Luna Parada, *Qca, MSc.*

Trabajo de investigación para optar el título de Doctora en Química

Director

Vladimir V. Kouznetsov

Doctor en Ciencias Químicas

Universidad industrial de santander

Facultad de ciencias

Escuela de química

Doctorado en química

Bucaramanga

2021

Dedicatoria

A Dios

A mis padres, Guillermo y Leonor, “padre de mis extrañas y mamacita linda”, por su amor profundo, paciencia, dedicación, esfuerzos y oraciones. Hoy por hoy entiendo aún mas cada una de las cosas hechas por mi.

A mi hermana del alma, Sandra, mi siempre “burusita”, por ser mi apoyo, mi orgullo, mi ejemplo a seguir.

A mi Valeria, luz de mis ojos, vida de mi vida, te amo desde el día en que supe de ti, mi esfuerzo y dedicación siempre será verte “grande, respetada y libre”.

Agradecimientos

Expreso mis mas sinceros agradecimientos a:

Al profesor *Vladimir Kouznetsov*, director de este proyecto y del Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular (LQOBio), por brindarme la oportunidad de crecer profesionalmente bajo su dirección, por sus ideas y valiosas orientaciones, por su infinita paciencia en todos los momentos difíciles.

A la profesora *Susana Zacchino*, *Maximiliano Sortino* y a todo el equipo del laboratorio de farmacognosia de la Universidad Nacional de Rosario en la ciudad de Rosario – Argentina. Fueron un eslabón importante no solo en el desarrollo de uno de los capítulos de la presente tesis sino en mi propio renacer.

A *Aurora Carreño*, por ser mi amiga, mi confidente, mi “nadie” y a la vez “mi todo”. Siempre hemos de encontrar gente que nos quiera y gente que nos golpee, lo importante es encontrar personas leales como tú.

A todos mis compañeros del LQOBio con los que pude compartir horas gratas de trabajo entre alegrías y uno que otro fracaso.

A todos y cada uno de los que estuvieron pendientes de mi.

Tabla de contenido

Introducción	16
1. Problemática y fundamentos teóricos de la presente investigación	25
1.1 Planteamiento del problema y justificación	25
1.2 Relación entre los hongos fitopatógenicos y los principales cultivos en Colombia	27
1.2. 1 Palma aceitera.....	28
1.3 Insecto <i>Spodoptera frugiperda</i>	33
1.4.1 Agentes antifúngicos (fungicidas)	35
1.5 Importancia de las (hidroxi)quinolinas y azoles.....	41
1.6 Hibridación molecular.....	46
1.7 Aspectos sintéticos de la obtención de híbridos (hidroxi)quinolin-azoles	50
1.7.1 Reacciones de cicloadición 1,3-dipolar	51
1.7.2 Click Chemistry	53
1.8 Antecedentes de investigaciones relacionadas con el presente trabajo	60
2. Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas conjugados, TA-HQus.....	66
2. 1 Desarrollo experimental: Consideraciones generales: materiales y métodos	68
2.2 Etapa A. Diversificación del anillo 8-hidroxiquinolínico	69
2.2.1. O-Alilación de 8-hidroxiquinolinas	69
2.2.2 Transposición de Claisen	71
2.2.3 Síntesis de alquinos: Reacción de propargilación.....	72
2.2.4 Síntesis de derivados de 8-hidroxiquinolina con cloruro de 4-nitrobenzoilo.....	76
2.2.5 Síntesis de derivados de 8-hidroxiquinolina con cloruro de metalilo	77
2.3 Etapa B. Síntesis de híbridos quinolin-azoles.	78
2.3.1 Síntesis de precursores: organoazidas	79
2.3.2 Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas conjugados del Grupo A.....	80
2.3.3 Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas conjugados Grupo B.....	94
2.4 Discusión de resultados	106
2.4.1 Etapa A. Diversificación del anillo 8-hidroxiquinolínico.....	106
2.4.1.2 Síntesis de derivados O-alilados	107
2.4.2 Etapa B. Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas, TA-HQus.....	125
2.5 Conclusiones del capítulo 2	134
3. Evaluación de actividad antifúngica de nuevos híbridos triazol-hidroxiquinolinas	136

3.1	Importancia de la búsqueda de actividad antifúngica	136
3.2	Generalidades: Actividad Antifúngica	137
3.3	Materiales y métodos	142
3.3.1	Microorganismos: preparación del inóculo.....	142
3.3.2	Determinación de la CIM	145
3.3.3	Determinación de la CFM.....	147
3.4	Resultados y discusión	148
3.4.1	Actividad antifúngica frente a hongos fitopatógenos.....	166
3.5	Conclusiones del capítulo 3	175
4.	Estudio de la actividad insecticida de derivados triazolquinolínicos para el control de Spodoptera frugiperda plaga del maíz.....	176
4.1	Importancia del control de plagas.....	176
4.2	Ciclo de vida del Spodoptera frugiperda	177
4.3	Insecticidas sintéticos e inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa	180
4.4	Compuestos quinolínicos enlazados a triazoles	182
4.5.2	Bioensayos	192
4.6	Resultados y discusión	195
4.6.1	Síntesis de los derivados triazol-quinolínicos 50-54.....	196
4.6.2	Bioensayo de actividad insecticida	203
4.6.3	Ensayo de inhibición in vitro de la enzima acetilcolinesterasa	211
4.7	Conclusiones del capítulo 4	232
	Referencias Bibliográficas	235

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Derivados de la 8-hidroxiquinolina con las propiedades biológicas.....	17
Figura 2. Compuestos que contienen el anillo triazólico con actividad biológica.....	18
Figura 3. Esquema general de síntesis de híbridos (hidroxi)quinolin-azoles.....	20
Figura 4. Afectaciones por PC en Colombia.....	31
Figura 5. Imágenes de <i>Phytophthora palmivora</i>	33
Figura 6. Estructura del pesticida DDT	35
Figura 7. Algunos agentes antifúngicos empleados a través de la historia	37
Figura 8. Imagen simplificada de la célula fúngica con los principales blancos (target), un lugar de acción de los antifúngicos.....	38
Figura 9. Ruta de biosíntesis del ergosterol	40
Figura 10. Interacción entre la molécula del triazol y la enzima estero1-14-demetilasa (CYP)	41
Figura 11. Quinolinas de origen natural que presentan actividad biológica	42
Figura 12. Derivados de la 8-hidroxiquinolina que presentan actividad biológica.....	43
Figura 13. Compuestos que contienen el anillo triazólico con actividad biológica	45
Figura 14. Fungicidas agrícolas con anillo azoles y quinolina.....	46
Figura 15. Hibridación molecular: clasificación de los híbridos	48
Figura 16. Compuestos híbridos con anillos quinolínicos y heterociclo de 1,2,3-triazol, oxazol e isoxazol.....	49
Figura 17. Ejemplos de híbridos conjugados tipo TA-HQus y híbridos fusionados tipo Qu-TA.....	50
Figura 18. Reacción de cicloadición 1,3-dipolar	51
Figura 19. Tipos y principales ejemplos de 1,3-dipolo	52

Figura 20. Regioselectividad de la reacción de cicloadición (RCD) 1,3-dipolar entre azidas y alquinos	52
Figura 21. Síntesis de 1,2,3-triazoles monosustituídos mediante un proceso clic/descarboxilación empleando CuI como fuente de átomos de cobre	54
Figura 22. Síntesis de 1,2,3-triazoles empleando CuOTf·C ₆ H ₆ como fuente de átomos de cobre ..	55
Figura 23. Síntesis de 1,2,3-triazoles empleando hidróxidos de cobre soportado en óxido de titanio	56
Figura 24. Síntesis de vinil-1,2,3-triazoles empleando Cu/C como sistema catalítico	56
Figura 25. Primer acercamiento al posible mecanismo de reacción CuAAc	59
Figura 26. Posibles rutas del mecanismo de reacción CuAAc	60
Figura 27. Preparación de los derivados del 7-cloroquinolin-triazoles mediante reacción CuAAc en mezcla de DCM-agua.....	61
Figura 28. Síntesis de los 7-cloroquinolin-triazoles mediante reacción CuAAc en mezcla de THF/terc-BuOH y agua	62
Figura 29. Síntesis de 1,2,3-triazoles mediante reacción de cicloadición dipolar catalizada por átomos de cobre.....	63
Figura 30. Síntesis de híbrido 8-hidroxiquinolin-azol separado por un espaciador corto	64
Figura 31. Esquema general de síntesis de híbridos conjugados (hidroxi)quinolin-azoles	68
Figura 32. Esquema general de síntesis de análogos de 8-hidroxiquinolina (8-HQ)	107
Figura 33. Preparación de derivados O-alilados IIa-c a partir de 8-hidroquinolinas comerciales ..	108
Figura 34. Espectro IR de 8-(aliloxi)quinolina (IIa).	109
Figura 35. Espectro 1H-RMN de 8-(aliloxi)quinolina (IIa).....	110
Figura 36. Síntesis de 7-alil-8-hidroxiquinolinas IIIa-c obtenidas a través de transposición de Claisen	112
Figura 37. Espectro IR de 7-alilquinolin-8-ol (IIIa).....	113
Figura 38. Espectro 1H RMN de 7-alil-8-hidroxiquinolina (IIIa)	114

Figura 39. Comparación de los espectros de ¹³ C-RMN de los compuestos IIa y IIIa.....	116
Figura 40. Preparación de derivados O-propargilados de 8-hidroxiquinolinas comerciales y sintéticas	117
Figura 41. Espectro IR de la 5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVa).	118
Figura 42. Espectro ¹ H-RMN de 5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVc).	120
Figura 43. Obtención de derivados a partir de cloruro de 4-nitrobenzoilo y cloruro de metalilo...	122
Figura 44. Espectro ¹ H-RMN de 2-metil-8-((2-metilalil)oxi)quinolina (VIb)	124
Figura 45. Espectro ¹ H-RMN de 5-cloroquinolin-8-il 4-nitrobenzoato (Vb).....	124
Figura 46. Esquema general de síntesis de azidas VII a-d a partir de análogos de anilinas	125
Figura 47. Esquema de síntesis de azidas VIIa-c a partir de análogos de bromuro de bencilo.....	125
Figura 48. Esquema de reacción para estudio de condiciones de reacción click-chemistry	127
Figura 49. Esquema de general de síntesis de híbridos TA-HQus conjugados del Grupo A y B...	128
Figura 50. Espectro IR del híbrido 5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37)	131
Figura 51. Espectro CG-EM del híbrido 5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37)	132
Figura 52. Espectro ¹ H-RMN del híbrido 5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37)	133
Figura 53. Espectro de ¹³ C y DEPT-135 superpuesto del híbrido 37.....	134
Figura 54. Representación esquemática de la metodología para la determinación de CIM.....	140
Figura 55. Metodología para determinar la CFM de compuestos puros.....	140
Figura 56. Cámara de Neubauer	143
Figura 57. Foto de la colonia pura de <i>F. graminearum</i> ; b. Unidades formadoras de colonia género Fusarium: conidios.....	144
Figura 58. Ecuación porcentaje de inhibición	148

Figura 59. Metodología empleada en la preparación de una microplaca para la determinación de la CIM.....	150
Figura 60. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 8-hidroxiquinolina.	154
Figura 61. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 5-cloro-8-hidroxiquinolina	155
Figura 62. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 5,7-dicloro- 8-hidroxiquinolina	156
Figura 63. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 7-alil-5-cloro-8-hidroxiquinolina.....	157
Figura 64. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 2-metil-8-hidroxiquinolina	158
Figura 65. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 7-alil-8-hidroxiquinolina	159
Figura 66. Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 7-alil-2-metil-8-hidroxiquinolina.....	160
Figura 67. Ciclo de vida del <i>Spodoptera frugiperda</i>	179
Figura 68. Derivados de alcaloides quinolínicos y esqueleto de quinolina	184
Figura 69. Quinolinas con actividad insecticida	185
Figura 70. Estructura de derivados enlazados a triazoles	186
Figura 71. Insecticidas comerciales usados en la investigación	189
Figura 72. Ruta de síntesis para la obtención de los híbridos TA-Qus.....	191
Figura 73. Espectro de ¹ H-RMN (CDCl ₃) de la 7-cloro-4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (50).....	200

Figura 74. Espectro de ^{13}C RMN (CDCl_3) de la 7-cloro-4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (50).....	200
Figura 75. A. Espectro de ^1H RMN (DMSO-d_6) del (1-(7-cloroquinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metanol (53); B. Zona aromática del espectro del 53.....	201
Figura 76. Espectro de ^{13}C RMN (DMSO-d_6) del (1-(7-cloroquinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metanol (53).....	202
Figura 77. Espectro infrarrojo de los compuestos obtenidos: A. IR del híbrido 53; B. IR de híbrido 54	203
Figura 78. Material biológico para bioensayos.....	204
Figura 79. Metodología de actividad insecticida en <i>Spodoptera frugiperda</i>	205
Figura 80. Ecuación de porcentaje de mortalidad (% mortalidad).....	205
Figura 81. Curva dosis-respuesta de porcentaje de mortalidad de metomil frente a <i>S. frugiperda</i>	206
Figura 82. Gráficas de las curvas % de mortalidad vs concentración para los compuestos objeto de estudio.....	208
Figura 83. Presentación de los resultados obtenidos del software Molinspiration, parámetros del híbrido 52 y 53 ..	210
Figura 84. Representación de la estructura general de la eeAChE ..	214
Figura 85. Secuencia de reacciones para determinar la actividad inhibitoria de la AChE	216
Figura 86. Diseño de microplaca para la determinación de inhibición enzimática	217
Figura 87. Gráficas de las curvas % de mortalidad vs concentración del compuesto de referencia galantamina, y experimento real en microplaca de 96 pocillos	218
Figura 88. Ecuación del % inhibición producido para cada compuesto ..	219

Figura 89. Gráficas de las curvas % inhibición vs concentración para los compuestos objeto de estudio ..	220
Figura 90. Ensayo de actividad antialimentaria en larvas de <i>S. frugiperda</i> ..	225
Figura 91. Ecuación de porcentaje de Índice Antialimentario (%IA) ..	225
Figura 92. Curvas de % Índice Antialimentario vs Concentración para el agente de referencia cipermetrina (Cip) ..	226
Figura 93. Imágenes del consumo de alimentos en la prueba de actividad antialimentaria ..	227
Figura 94. Gráficas de las curvas % de índice antialimentario vs concentración para los compuestos objeto de estudio ..	229

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Resumen general de derivados obtenidos de la reacción <i>O</i> -alilación	108
Tabla 2. Señales características de los hidrógenos alílicos encontrados en los compuestos IIa-c	111
Tabla 3. Resumen general de derivados IIIa-c	112
Tabla 4. Señales características de los hidrógenos alílicos encontrados en los compuestos IIIa-c	115
Tabla 5. Derivados 8-hidroxiquinolínicos <i>O</i> -propargilados IVa-g	117
Tabla 6. Señales características de los protones de los derivados IVa-g.....	121
Tabla 7. Rendimientos y propiedades físicas de los compuestos V,VI.....	124
Tabla 8. Experimentos para el estudio de condiciones de reacción click chemistry	127
Tabla 9. Rtos y propiedades físicas de los híbridos TA-HQus 1-49	129
Tabla 10: Procedimiento determinación de CIM. Controles y resultados esperados.	146
Tabla 11. Hongos utilizados y características experimentales.	147
Tabla 12. Valores de CIM ₁₀₀ , CIM ₈₀ , CIM ₅₀ y CFM (µg/mL) para los compuestos híbridos hidroxiquinolin-azoles 1-49 frente a <i>C. albicans</i> y <i>C. neoformans</i>	150
Tabla 13. Valores de CIM (µg/mL) de derivados TA-HQus (panel de hongos filamentosos)	163
Tabla 14. Valores de CIM (µg/mL) de antifúngicos comerciales frente a panel de hongos fitopatógenos (CIM ₁₀₀).....	168
Tabla 15. Valores de CIM (µg/mL) de derivados TA-HQus s frente a panel de hongos fitopatógenos.	172

Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas de los híbridos obtenidos TA-Qus50-54.....	197
Tabla 17. Valores de CL ₅₀ y CL ₉₅ para los compuestos derivados TA-Qus 50-54.....	207
Tabla 18. Resultados de los parámetros calculados usando software Molinspiration.....	211
Tabla 19. Valores de CI ₅₀ para las triazolilquinolinas 50-54	220
Tabla 20. Valores de porcentaje de Índice antialimentario (%IA) de los híbridos 50-54 en cada una de las concentraciones probadas	226
Tabla 21. Actividad antialimentaria de los híbridos TA-Qus 50-54	229

Resumen

Título: Preparación de nuevos híbridos (hidroxi)quinolin-azoles como posibles agentes antifúngicos e insecticidas *

Autor: Luz Karime Luna Parada **

Palabras claves: Híbridos moleculares, Quinolinas, 1,2,3-Triazoles, Reacción de cicloadición 1,3-dipolar, Química clic, Agentes agroquímicos, Actividad antifúngica *in vitro*.

Descripción:

Basándose en la táctica de hibridación molecular y el potencial de reacciones de cicloadición 1,3-dipolar tipo química clic se prepararon y caracterizaron dos tipos híbridos moleculares: híbridos hidroxiquinolin-triazoles conjugados basados en la estructura de la 8-hidroxiquinolona e híbridos quinolin-triazoles fusionados, derivados del fragmento 7-cloroquinolin-4-ilo proveniente de la 2,7-dicloroquinolona. Su preparación se basó en el protocolo de Sharpless-Fokin usando el sulfato de cobre (II) pentahidrato y ácido ascórbico (ascorbato de sodio) en una mezcla de disolventes, agua y alcoholes.

La realización de la prospección biológica (actividad antifúngica e insecticida) de nuevos híbridos obtenidos arrojó los nuevos resultados interesantes sobre las propiedades inhibitorias del crecimiento de los hongos de los géneros *Candida* y *Fusarium* y de las larvas del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).

Los resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de los híbridos conjugados indicaron que algunas moléculas muestran fuerte actividad fungicida con CIM entre 7,8 y 62,5 µg/mL y CFM entre 15,6 y 125 µg/mL. Las propiedades insecticidas (LD₅₀ 327,1-996,9 µg/larva) de los híbridos fusionados se examinaron realizando bioensayos por aplicación tópica de los compuestos sobre larvas de peso promedio 500 ± 50 mg. El análisis de la actividad antialimentaria de los derivados reveló que las CE₅₀ estuvieron en el rango de 316,0 hasta 630,1 µg/mL.

En conclusión, la simplicidad y la eficacia del procedimiento sintético empleado para la generación de los dos tipos de híbridos quinolin-triazólicos no solo permitieron su preparación a gran escala sino su evaluación tanto *in vitro* e *in vivo* sobre diferentes modelos de hongos e insectos abriendo un camino para el desarrollo de nuevos modelos de moléculas con actividad antifúngica y/o insecticida que puedan ser útiles para combatir los hongos y/o insectos que atacan a la palma aceite y al cultivo de maíz.

* Tesis Doctoral

**Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Director: Kouznetsov, V. V

Abstract

Title: Preparation of new (hydroxy) quinolin-azole hybrids as possible antifungal agents and insecticides *

Author: Luz Karime Luna Parada **

Keywords: Molecular hybrids, Quinolines, 1,2,3-Triazoles, 1,3-dipolar cycloaddition reaction, Click chemistry, Agrochemical agents, *In vitro* antifungal activity.

Description:

Based on the tactics of molecular hybridization and the potential of 1,3-dipolar cycloaddition reaction, type click reaction, two different molecular hybrid types were prepared and characterized: conjugated hydroxyquinoline-triazole hybrids based on the structure of 8-hydroxyquinoline and fused quinoline-triazole hybrids, derivatives of the 7-chloroquinolin-4-yl fragment from 2,7-dichloroquinoline. Its preparation was based on the Sharpless-Fokin protocol using copper (II) sulphate pentahydrate and ascorbic acid (sodium ascorbate) in a mixture of solvents, water, and alcohols.

The carrying out of the biological prospecting (antifungal and insecticidal activity) of new hybrids obtained interesting new results on the growth inhibitory properties of the fungi of the genera *Candida* and *Fusarium* and of the larvae of the armyworm (*Spodoptera frugiperda*).

The results of the *in vitro* antifungal activity of the conjugated hybrids indicated that some molecules show strong fungicidal activity with MIC between 7.8 and 62.5 $\mu\text{g/mL}$ and CFM between 15.6 and 125 $\mu\text{g/mL}$. The insecticidal properties (LD_{50} 327.1-996.9 $\mu\text{g/larva}$) of the fused hybrids were examined by performing bioassays by topical application of the compounds on larvae of average weight 500 ± 50 mg. The analysis of the antifeedant activity of the derivatives revealed that the EC_{50} were in the range of 316.0 to 630.1 $\mu\text{g/mL}$.

In conclusion, the simplicity and effectiveness of the synthetic procedure used to generate the two types of quinolin-triazole hybrids not only allowed their preparation on a large scale but also their evaluation both *in vitro* and *in vivo* on different models of fungi and insects that opens a path for the development of new models of molecules with antifungal and / or insecticidal activity which can be useful to combat the fungi and / or insects that attack the oil palm and the corn crop.

* Doctoral Thesis

** Faculty of Sciences, School of Chemistry. Director: Prof., Dr. Kouznetsov, V. V.

Introducción

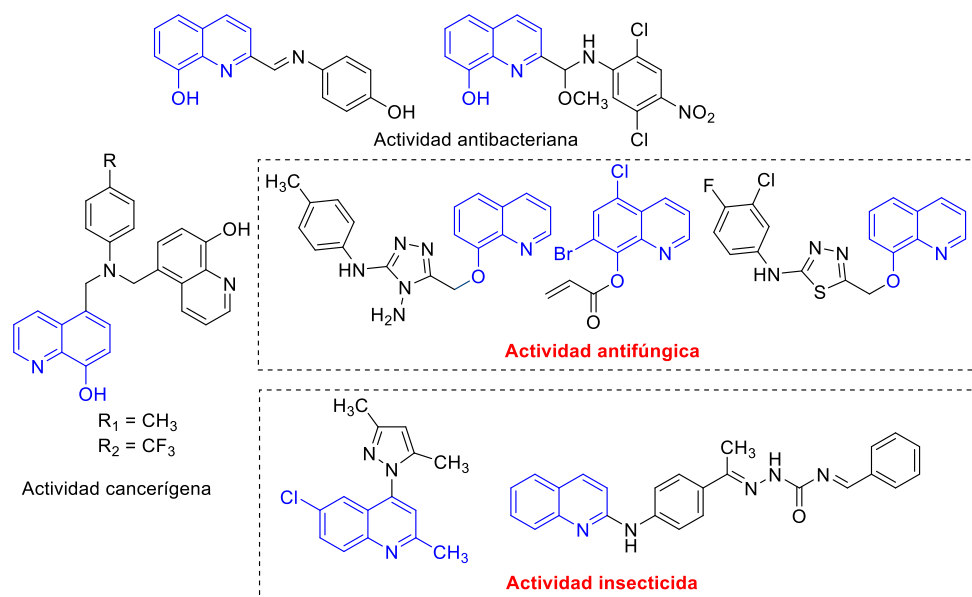
Uno de los retos importantes de la química orgánica sintética es el diseño y síntesis de nuevas moléculas biológicamente activas que puedan ser empleadas en la medicina como agentes farmacológicos o en la agricultura como agentes agroquímicos. Entre estas se destacan los derivados quinolínicos, cuyas estructuras están presentes en los metabolitos secundarios y las moléculas sintéticas con amplia variedad de propiedades biológicas. Basándose en el amplio espectro de actividades encontradas en las quinolinas aisladas de la naturaleza y preparadas en el laboratorio químico, los químicos orgánicos se dan a la tarea de generar librerías de estos sistemas por medio de la síntesis química obteniendo así nuevas moléculas de importancia en medicina y agricultura.

Las quinolinas (Qus), en particular, las 8-hidroxiquinolinas (HQus) y sus derivados son heterociclos nitrogenados interesantes por su espectro de actividades farmacológicas: actividad anticancerígena (Arafa et al., 2013; Moret et al., 2009), insecticida, antifúngica (Musiol et al., 2006), antibacteriana, entre otras (Figura 1).

Por su parte los triazoles (TAs), otra clase importante de los heterociclos, han sido empleados en muchos productos farmacéuticos y en control de plagas. En particular, los 1,2,3-triazoles son de gran importancia en la química orgánica y ciencias afines porque pueden actuar como un bloque farmacóforo o puente-separador entre dos o más sustancias de interés en la metodología de hibridación molecular.

Figura 1.

Derivados de la 8-hidroxiquinolina con las propiedades biológicas.



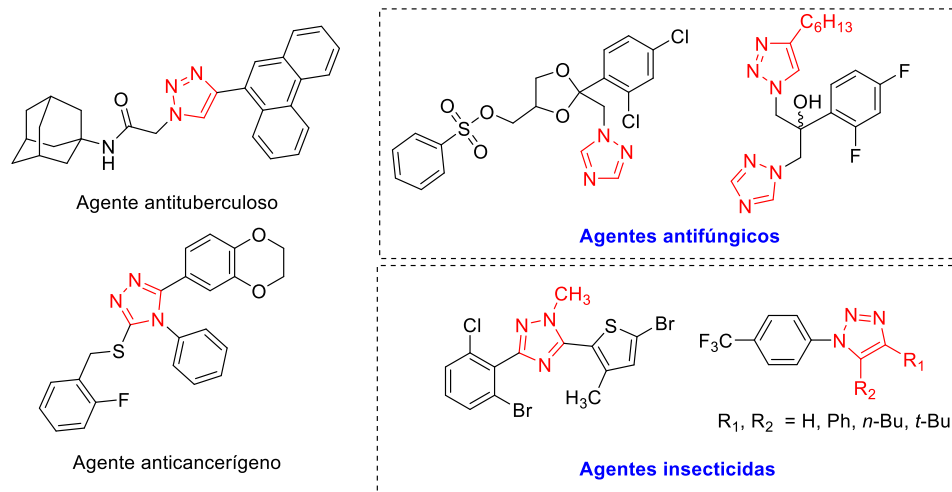
Muchos de los triazoles han mostrado también importantes actividades biológicas y farmacológicas entre las cuales se destacan propiedades anticancerígena, antituberculosa, insecticida y antifúngica, entre otras (Alam et al., 2006; Bonandi et al., 2017; Colombano et al., 2010). Algunos ejemplos de este tipo de heterociclo con la actividad biológica se muestran en la

En el presente proyecto primero se diseñó, sintetizó y se caracterizó una nueva serie de moléculas híbridas conjugados y fusionados, (hidroxi)quinolin-azoles (TA-HQus y TA-Qus) y luego se realizó su prospección biológica (principalmente, actividad antifúngica e insecticida) como posibles agentes agroquímicos para la protección de cultivos

económicamente importantes en Colombia, *e.g.*, la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq), maíz (*Zea mays* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.)

Figura 2.

Compuestos que contienen el anillo triazólico con actividad biológica.



Se empleó la táctica de hibridación molecular, donde se unen dos moléculas (grupos, anillos) bioactivas individualmente, que puede mejorar los parámetros fisicoquímicos y por ende, biológicos de las moléculas-híbridas, TA-HQs. Estas últimas fueron construidos a partir de dos heterociclos - las (8-hidroxi)quinolinas y los 1,2,3-triazoles- ambos reconocidos andamios en la lucha contra diversas plagas, ya sean comerciales o sintetizados a través de reacciones de cicloadición 1,3-dipolar tipo química clic (“*click chemistry*”).

Cada uno de los productos intermedios y finales sintetizados en cada una de las etapas de las rutas de síntesis diseñadas fueron caracterizados según sus parámetros espectroscopia

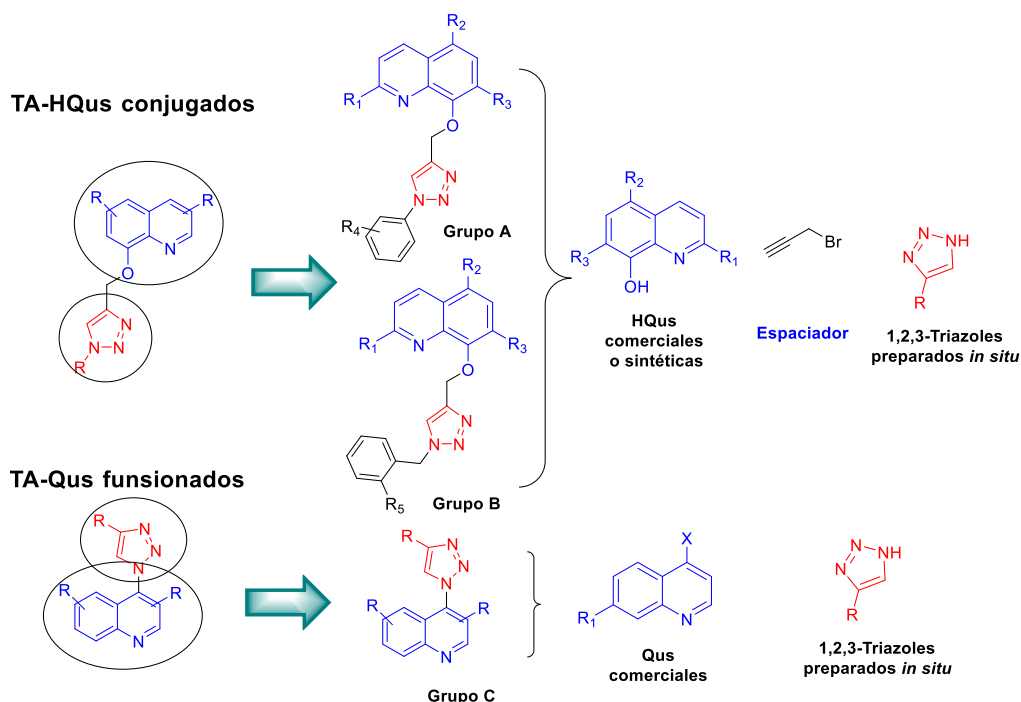
de infrarrojo IR, espectrometría de masas (EM) y resonancia magnética nuclear de protones (RMN ^1H) y de carbono (RMN ^{13}C).

El desarrollo general del diseño de síntesis se presenta en la Figura 3. Se sintetizaron más de 50 nuevas moléculas quinolónicas tipo conjugado TA-HQus, las cuales fueron examinadas frente cepas de hongos de afectación humana y agrícola, mostrando actividad antifúngica moderada a fuerte.

Los híbridos conjugados TA-HQus fueron evaluados frente a las levaduras *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans* por el método de microdilución en caldo del CLSI M27-A3 (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008b) y frente a ocho especies fúngicas del género *Fusarium* por el método del CLSI M38-A2 (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008a) determinándose la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM). De los 49 híbridos probados, ocho de ellos mostraron fuerte actividad fungicida con CIM entre 7,8 y 62,5 $\mu\text{g/mL}$ y CFM entre 15,6 y 125 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 3.

Esquema general de síntesis de híbridos (hidroxi)quinolin-azoles.



Así mismo para algunos híbridos funcionados TA-Qus, buscando nuevos agroquímicos para controlar la plaga migratoria, el gusano cogollero o *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), se hicieron pruebas *in vivo* sobre este insecto en su estadio larvario. Para estimar la actividad insecticida se realizó aplicación tópica de los compuestos sobre larvas de peso promedio 500 ± 50 mg determinando la concentración letal media (LD₅₀) que estas se encuentran en un rango de 327,1 a 996,9 µg/larva lo que permitan clasificar los híbridos como agentes insecticidas moderados.

Igualmente, la actividad antialimentaria de los derivados fue estudiada usando el disco de fruto con el método no-choice, las concentraciones efectivas medias (CE₅₀)

estuvieron en el rango de 316,0 hasta 630,1 $\mu\text{g/mL}$. Como posible mecanismo de acción se estudió la inhibición de la acetilcolinesterasa, encontrándose que las concentraciones inhibitorias medias (CI_{50}) estuvieron entre 0,203 y 0,092 mM.

El presente trabajo, a través de la consecución de los objetivos propuestos, se logró consignar los resultados más relevantes, resumido en cuatro capítulos.

El primer capítulo incluye una descripción de los problemas abordados y una revisión de los fundamentos teóricos de la investigación. Los capítulos siguientes presentan los resultados propios referentes a la síntesis y caracterización de los heterociclos obtenidos y a la bioprospección realizada.

El capítulo 2 contiene la información de la preparación y la caracterización de los híbridos (8-hidroxi)quinolin-triazólicos vía la reacción de cicloadición 1-3-dipolar entre organoazidas y alquinos terminales. En esta parte experimental se discuten tres aspectos: la diversificación del anillo 8-hidroxiquinolinico, la síntesis de híbridos bajo concepto de química clic y la síntesis de algunas entidades químicas (“fragmentos moleculares” farmacofóricos) que forma parte en las estructuras de los híbridos conjugados.

En el capítulo 3 se discute el trabajo propio del autor sobre la evaluación biológica *in vitro* de híbridos, precursores y entidades químicas como posibles agentes antifúngicos contra de cepas fitopatógenas y de afectación humana. Es un “fruto” valioso de la pasantía de la autora en la Universidad Nacional de Rosario (Rosarion, Argentina).

El capítulo 4 cuenta los resultados preliminares de la evaluación biológica de los híbridos fusionados seleccionados. Esta parte del trabajo (con la colaboración del grupo de Investigaciones Ambientales para el Desarrollo Sostenible, - GIADS de la Universidad Santo Tomás, seccional B/manga) incluye la realización de los bioensayos *in vivo* con las larvas del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*, Lepidoptera: Noctuidae) buscando los efectos inhibitorios de las moléculas obtenidas sobre su crecimiento (actividades insecticida y antialimentaria). Asimismo, se discuten los resultados de la actividad inhibitoria frente enzima AChE, diana común de gran parte de los insecticidas usados actualmente.

Durante los estudios doctorales se realizaron las siguientes pasantías:

- *Nacional*

Universidad de los Andes, Grupo de Investigación en compuestos Bio-orgánicos (GICOBIOORG) adscrito a la Facultad de Ciencias dirigido por la Dr. Jaime Antonio Portilla Salinas. Noviembre - 2016. Bogotá-Colombia.

- *Internacional*

Universidad Nacional de Rosario, Facultad de ciencias bioquímicas y farmacéuticas, dirigido por la Dra. Susana Zacchino. Febrero - Agosto de 2017. “Evaluación de actividad antifúngica de nuevos híbridos hidroxiquolin-azoles”. Rosario - Argentina

Algunos resultados generados durante la realización de esta investigación fueron presentados en congresos nacionales e internacionales. De la misma forma, los resultados fueron sometidos en forma de artículos al análisis de la comunidad científica interesada:

Ponencias

Luna, Luz K. y Kouznetsov, V. Preparación de nuevos híbridos quinolin-azoles como potenciales agentes agroquímicos. Ponencia Oral. Primer encuentro científico de la facultad de Ciencias. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, 25 y 26 de noviembre de 2015.

Luna, Luz K., Sortino, M., Zacchino, S. y Kouznetsov, V. Síntesis y actividad antifúngica de híbridos hidroxiquinolin-azoles. Abstr. XVII Congreso Colombiano de Química. Bucaramanga, 25 – 27 de octubre de 2017.

Luna, Luz K., Sortino, M., Zacchino, S., Urbina, J. M. y Kouznetsov, V. Preparación de nuevos híbridos quinolin-azoles como potenciales agentes antifúngicos. Abstr. XXI Simposio Nacional de Química Orgánica. Potrero de los Funes, San Luis, Argentina. 8 – 11 de noviembre de 2017. ISSN: 2346-9862. Libro de Sinopsis XXII SINAQO.

Artículos:

1. Luna Parada, L. K., Vargas Méndez, L. Y., Kouznetsov, V. V. (2018). Quinoline-Substituted 1,2,3-Triazole-Based Molecules, As Promising Conjugated Hybrids in

Biomedical Research, *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 7 (2):

555708. DOI: 10.19080/OMCIJ.2018.07.555708

2. Luna Parada, L., & Kouznetsov, V. (2019). 5-Chloro-8-{{[1-(2-chlorobenzyl)-1*H*-1, 2, 3-triazol-4-yl] methoxy} quinoline. *Molbank*, 2019(1), M1038.
3. Rosado-Solano, D. N., Barón-Rodríguez, M. A., Sanabria Florez, P. L., Luna-Parada, L. K., Puerto-Galvis, C. E., Zorro-González, A. F., Vargas-Méndez, L. Y. (2019). Synthesis, Biological Evaluation and In Silico Computational Studies of 7-Chloro-4-(1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)quinoline Derivatives: Search for New Controlling Agents against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(33), 9210–9219. DOI: 1021/acs.jafc.9b01067
4. Luna Parada, L. K., Sortino, M., Zacchino, S.A., Kouznetsov, V.V. “Synthesis and antifungal activity of new substituted 1,2,3-triazol-4-yl-quinoline derivatives from 8-hydroxyquinolines” (en preparación)

1. Problemática y fundamentos teóricos de la presente investigación

1.1 Planteamiento del problema y justificación

La protección de cultivos y la salud humana son condiciones previas fundamentales para la supervivencia y calidad de vida de la humanidad. La población mundial en constante crecimiento necesita un aumento dramático en la eficiencia de la producción agrícola para garantizar una producción suficiente de alimentos en el siglo XXI. Así mismo, la lucha contra las distintas plagas que amenazan a los alimentos y demás productos agrícolas se complementa a la necesidad de controlar insectos y otros animales vectores de varias enfermedades.

En Colombia, el maíz dulce es uno de los principales cultivos del país, ocupando una superficie de 310.195 hectáreas y su producción se destina al consumo en fresco, congelado o seco, y como ingrediente en la producción de concentrados para animales (DANE, 2011). El valor comercial del producto está determinado por su calidad y presentación. La presencia de insectos en la mazorca deteriora la apariencia del producto, disminuyendo su atractivo para el consumidor, siendo éste el que establece el parámetro de “cero tolerancia de plagas”. El *Spodoptera frugiperda* ataca al momento de llenado del grano, y causa las mayores mermas en el cultivo con pérdidas que van desde el 13 al 60% (ICA, 2012).

De otro lado, por primera vez en la historia las plantas económicas están siendo utilizadas a gran escala para la producción de biomasa y biocombustible. Otra fuente importante de impacto sobre la agricultura en el siglo XXI será el cambio climático global. El aumento de las temperaturas en todo el mundo va a tener efectos sobre la productividad de todas las plantas comunes de cultivo. Por ende, en los últimos años, los mercados agrícolas mundiales se están desarrollando rápidamente y los precios de los productos agrícolas más importantes se han disparado y han alcanzado registros históricos (Dayan, Cantrell, & Duke, 2009; Scherkenbeck, 2009; Schmitz & Kavallari, 2009).

En este contexto, uno de los cultivos más importantes de nuestro país es la palma aceitera (*Elaeis guineensis Jacq*). La importancia del cultivo de palma para Colombia se observa en su volumen de producción nacional (el 1% del PIB nacional, el 4% del PIB agropecuario y casi el 8% de la producción agrícola del país) (Fedepalma, 2015). Colombia es el cuarto productor de aceite de palma en el mundo. La industria del aceite de palma es actualmente líder a nivel mundial en la provisión de aceites y grasas, biocombustibles. Sin embargo, la pudrición de cogollo (PC), uno de los problemas de mayor potencial destructivo, amenaza constantemente a los cultivos de palma obligando erradicar miles de hectáreas. La situación se agrava aún más al saber que hoy en día, no hay agroquímicos (fungicidas, insecticidas y bactericidas) efectivos contra la PC (Almario Chávez, 2016; Redacción agropecuaria, 2016; Redacción economía, 2017).

Por eso, la protección de cultivos mencionados es una tarea importante para la sociedad moderna donde la unión entre la química orgánica sintética y la agroquímica puede solucionar parcialmente este problema, desarrollando nuevos y seguros agentes

agroquímicos efectivos de uso múltiple (fungicidas, insecticidas, bactericidas, *etc.*), capaces de combatir diversas plagas que atacan especies vegetales importantes en la vida humana.

El éxito de las prácticas agrícolas modernas se debe en parte al descubrimiento y la adopción de productos químicos para el control de plagas (hongos, bacterias, virus, insectos, *etc.*). De hecho, el enorme aumento en los rendimientos de los cultivos asociados con la revolución "verde" no hubiera sido posible sin la contribución de los compuestos sintéticos. La protección química de cultivos seguirá siendo la principal estrategia para el tratamiento de los factores bióticos, tales como enfermedades micóticas de las plantas. En el futuro, los agroquímicos van a necesitar propiedades adicionales, tales como un modo selectivo de acción, baja toxicidad para los organismos beneficiosos y ser sostenibles medioambientalmente.

Al tener en cuenta estas circunstancias, la búsqueda de nuevos modelos moleculares (TA-HQus, QTA-Qus, figura 3) como posibles agentes agroquímicos para el control de las plagas mencionadas es suma de importancia socioeconómica. En el presente proyecto, estos modelos fueron preparados vía la síntesis química sostenible que ahora es un punto central obligatorio de la química orgánica sintética, la cual genera nuevas entidades químicas.

1.2 Relación entre los hongos fitopatogénicos y los principales cultivos en Colombia

El maíz, el arroz y recientemente, la palma africana (aceitera), son los productos más representativos para la economía Colombiana (DANE, 2016). Todos los cultivos se ven

afectados por diversos factores que limitan su producción, entre los que se encuentran las plagas agrícolas que son todos aquellos organismos que al aumentar su población de manera descontrolada causan daño al cultivo, disminuyendo sus rendimientos, reduciendo el valor de la cosecha o incrementando sus costos de producción.

Los hongos están presentes en el aire, en el tracto gastrointestinal de los humanos y animales, en el suelo y también en las plantas (Calderone, 2004). Estas últimas poseen un sistema natural de defensa química contra la invasión de los hongos patógenos, generando molécula-protectoras (fitoalexinas) que son propios agentes antimicóticos de una planta afectada. Sin embargo, cuando se trata de los cultivos de gran impacto, este sistema natural a veces falla y la invasión micótica se convierte en una plaga para la agricultura.

1.2. 1 *Palma aceitera*

Existen indicios fósiles, históricos y lingüísticos de que la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) es originaria de África Occidental y se cree que llegó a América a partir del descubrimiento de Colón, aunque no se descarta posibilidades de transporte precolombinos. La palma es un vegetal perenne; cuando se cultiva con propósitos comerciales, tiene en promedio una vida útil entre 24 y 28 años, de acuerdo con el tipo de material sembrado. Durante este lapso, cada palma emite racimos de frutos oleaginosos, que pueden alcanzar producciones de 4,2 toneladas durante su vida productiva. Esto representa unas 600 toneladas acumuladas de fruta por hectárea, cuando el proceso productivo se

desarrolla en condiciones óptimas de suelo, clima, nutrición, mantenimiento, sanidad y administración (Vera Barrios, 2017).

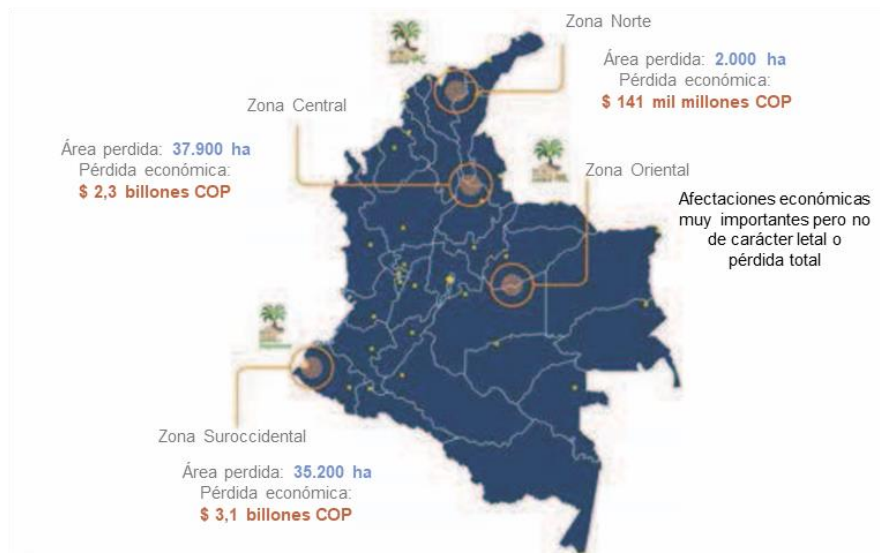
La palma aceitera (*Elaeis guineensis Jacq*), uno de los principales cultivos en Colombia, es una planta tropical propia de climas cálidos que crece en tierras por debajo de los 500 metros sobre el nivel del mar. Por su naturaleza perenne y las ventajas en su manejo agroeconómico, es el sistema no nativo menos perturbado al compararlo con otros cultivos de manejo igualmente intensivo (Martínez et al., 2009). Colombia es el primer productor latinoamericano y el cuarto productor mundial, con algo más de 450.000 hectáreas de palma sembrada; el 70% de la producción de aceite de palma se consume en el país (Mosquera et al., 2016). En Colombia, 124 municipios en 18 departamentos dependen socioeconómicamente del cultivo que genera 128.000 empleos directos y cerca de 200.000 empleos indirectos; de la palma de aceite dependen 130.000 familias (Dangond, 2015).

De acuerdo con el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se mencionan seis enfermedades y/o plagas de palma aceitera: marchitez letal, anillo rojo, marchitez sorpresiva, pudrición del cogollo (PC), insectos *Strategus aloeus* y *Rhynchophorus palmarum*. Sin embargo, se cree que uno de los problemas de mayor potencial destructivo de la palma aceitera es la PC que se manifiesta con la pudrición de la hoja sin abrir, a lo que se le denomina flecha. Esta enfermedad es un obstáculo serio para la producción de palma de aceite en Colombia y en los países vecinos de Brasil, Costa Rica, Ecuador, Nicaragua, Panamá, Perú y Surinam.

Entre los brotes de la enfermedad en Colombia, se reporta una severa devastación de las plantaciones en Tumaco (Alegría et al., 2015), donde la enfermedad ha afectado la mayoría de las 35.000 hectáreas sembradas lo cual representa una pérdida económica cercana a 3,1 billones de pesos; En la Zona Central, recientemente, se registra la pérdida de cerca de 37.900 ha (Martínez, Sarria, Torres, & Varón, 2010), con un saldo de 2,3 billones de pesos en pérdidas para los productores de la región. Por su parte, la Zona Norte reporta un área afectada de 2.000 ha, con una estimación de 141.000 millones de pesos en pérdidas (Cooman, 2017). En la Zona Oriental, en donde esta enfermedad no ha sido tan letal, e han reportado afectaciones en algunos cultivos que deben ser monitoreadas constantemente en aras de evitar epidemias como las que afectaron a Tumaco (Nariño) y Puerto Wilches (Santander) en su momento (Desde los primeros informes de la Pudrición del cogollo, se han propuesto diferentes hipó-tesis y observaciones con respecto a la causa de esta enfermedad (Drenth, Torres, & Martinez, 2013). El estudio de los agentes causales y posibles vectores de la PC de palma aceitera están todavía en desarrollo, pero la mayoría de la evidencia indica que no se trata de una enfermedad con un agente primario (Campanella, Ippolito, & Nigro, 2002). Según CENIPALMA el factor encargado de la PC es de carácter biótico patogénico (*Phytophthora palmivora* Butl.) o factores abióticos predisponentes u otros agentes causales asociados (Martínez et al., 2010).

Figura 4.

Afectaciones por PC en Colombia.



En la actualidad es la enfermedad más limitante para la palmicultura nacional, especialmente para el departamento de Santander. Bajo estas circunstancias se espera que el impacto económico sea cada vez más significativo año tras año.

Desde los primeros informes de la Pudrición del cogollo, se han propuesto diferentes hipótesis y observaciones con respecto a la causa de esta enfermedad (Drenth, Torres, & Martínez, 2013). El estudio de los agentes causales y posibles vectores de la PC de palma aceitera están todavía en desarrollo, pero la mayoría de la evidencia indica que no se trata de una enfermedad con un agente primario (Campanella, Ippolito, & Nigro, 2002). Según CENIPALMA el factor encargado de la PC es de carácter biótico patogénico (*Phytophthora*

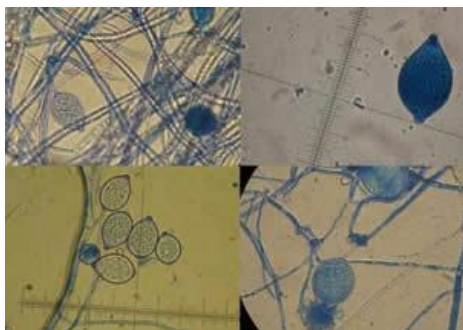
palmivora Butl.) o factores abióticos predisponentes u otros agentes causales asociados (Martínez et al., 2010).

Para la identificación del agente causante se tomaron muestras de palmas afectadas por la PC, pero lo que ayudó a encontrar el responsable de la enfermedad fue apartarse de los sitios más degradados y concentrar el estudio en las zonas de avance en los sitios más internos del cogollo. Así, mediante un trabajo constante en los laboratorios de Cenipalma se logró encontrar a *Phytophthora palmivora* (Figura 5) y obtener los aislamientos puros que dieron paso a todos los estudios de patogenicidad (Sanz Scovino, 2016).

Mientras se investiga una solución definitiva para el problema, se ha observado que el manejo de plagas oportunistas que atacan los cultivos de palma que sufren la PC se presenta como un método alternativo. Entre estas plagas oportunistas se mencionan varias: otros hongos de diferentes géneros (*Fusarium* spp., *Colletotrichum* sp., *Thielaviopsis* sp., y *Rhizoctonia* sp, entre otros), bacterias (*Pseudomonas* sp. y *Erwinia* sp) e insectos (*Rhynchophorus palmarum*) que promueven el proceso de pudrición, el cual se origina en los tejidos inmaduros de las flechas que se están desarrollando (Martinez et al., 2008).

Figura 5.

Imágenes de Phytophthora palmivora.



De esta manera, al llevar un proceso integral, se brinda una oportunidad de recuperación total del cultivo, evitando así el sacrificio de toda la plantación, sin embargo, hoy en día no se cuenta con agentes antifúngicos selectivos y efectivos contra la PC. Sólo se intenta usar un producto con los dos ingredientes fungicidas: Propamocarb y Fluopicolide. Ambos son biocidas de acción sistémica.

1.3 Insecto Spodoptera frugiperda

El gusano cogollero (*S. frugiperda*, Lepidoptera: Noctuidae) es un insecto polígrafo de enorme importancia agrícola, no sólo a causa de los daños que provoca, sino también a las dificultades para su control (Casmuz *et al.*, 2010). La especie es una plaga migratoria endémica del hemisferio occidental que se encuentra desde el sur de Canadá hasta Argentina, y causa considerables pérdidas económicas en varios cultivos de importancia, tales como el maíz, sorgo, arroz, algodón, alfalfa, pastos forrajeros, y de vez en cuando a otros presentes en los países de su área de distribución. Se conocen dos cepas genéticamente distintas que difieren en su distribución planta-huésped: una se alimenta principalmente de maíz y sorgo

(cepa de maíz), y la otra cepa se alimenta de arroz y pastos (cepa de arroz) (Soberón *et al.*, 2012).

El control de este insecto es una de las causas del aumento significativo en los costos de producción, la disminución en la rentabilidad del cultivo, y la afectación de manera negativa a la calidad final del producto, que ha dependido exclusivamente de los insecticidas (entre ellos los carbamatos: metomil, clorpirifos y cipermetrina, carbaril, propoxur, carbofurano, bendiocarb, tiodicarb, y los organofosforados paraoxon, metilpraixon y diclorvos) (Yu *et al.*, 2003), como resultado, esta plaga ha desarrollado resistencia en muchas áreas del planeta (OMS, 1992), lo que ha ocasionado un descontrolado crecimiento, causando importantes pérdidas en la producción de este cereal.

1.4 Pesticidas

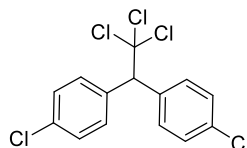
Los agentes agroquímicos se emplean en la protección de cultivos de gran impacto socioeconómico, conocidos como plaguicidas o pesticidas. Los pesticidas son sustancias naturales o sintéticas empleadas para eliminar las plagas de las plantas o los animales no deseados. Mientras que el término pesticida está a menudo relacionado con compuestos químicos de origen sintético, no fue sino hasta hace relativamente poco que los plaguicidas sintéticos entraron en uso. Compuestos de origen o extractos naturales eran los que normalmente se empleaban desde la antigüedad.

Los pesticidas más antiguos son probablemente la sal, extractos de tabaco y pimientos rojos entre otros. Aceites de petróleo, metales pesados, arsénico, fueron reemplazados en la

década de los años 40, por pesticidas orgánicos sintéticos, de los cuales el más famoso es el DDT (1,1,1-tricloro-2,2-di(4-clorofenil)etano) (Figura 6).

Figura 6.

Estructura del pesticida DDT.



Debido a que el término pesticida abarca una gran cantidad de sustancias, se hace necesario clasificarlas ya sea por su plaga objetivo o por su identidad química. La clasificación por la plaga objetivo es quizás la más conocida, entre las que se destacan los insecticidas (insectos), herbicidas (plantas indeseadas) o fungicidas (hongos) entre otros.

1.4.1 Agentes antifúngicos (fungicidas)

El concepto de agente antifúngico se refiere a cualquier sustancia capaz de producir una alteración de las estructuras de las células de un hongo ocasionando que inhiban su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, directa o indirectamente, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped (Hirooka & Ishii, 2013; Calderone, 2004).

Los agentes antifúngicos incluyen una gran variedad de compuestos que difieren entre sí ya sea por su estructura química o mecanismo de acción, por ello su clasificación se efectúa según criterios convencionales. Así, según su naturaleza química, se encuentran compuestos inorgánicos (azufre, cobre, *etc.*) y organosintéticos (ditiocarbamatos, cabamatos, piretroides, polienos, azoles, alilaminas, quinolinas, entre otros); pueden ser preventivos o curativos según su momento de aplicación, y de la misma manera se pueden clasificar teniendo en cuenta el sitio de aplicación ya sea al suelo, al follaje, a la semilla y a la cosecha; de acuerdo con su origen (como sustancias producidas por organismos naturales, o derivados sintéticos), su espectro de acción (amplio o restringido) y a su sitio o mecanismo de acción.

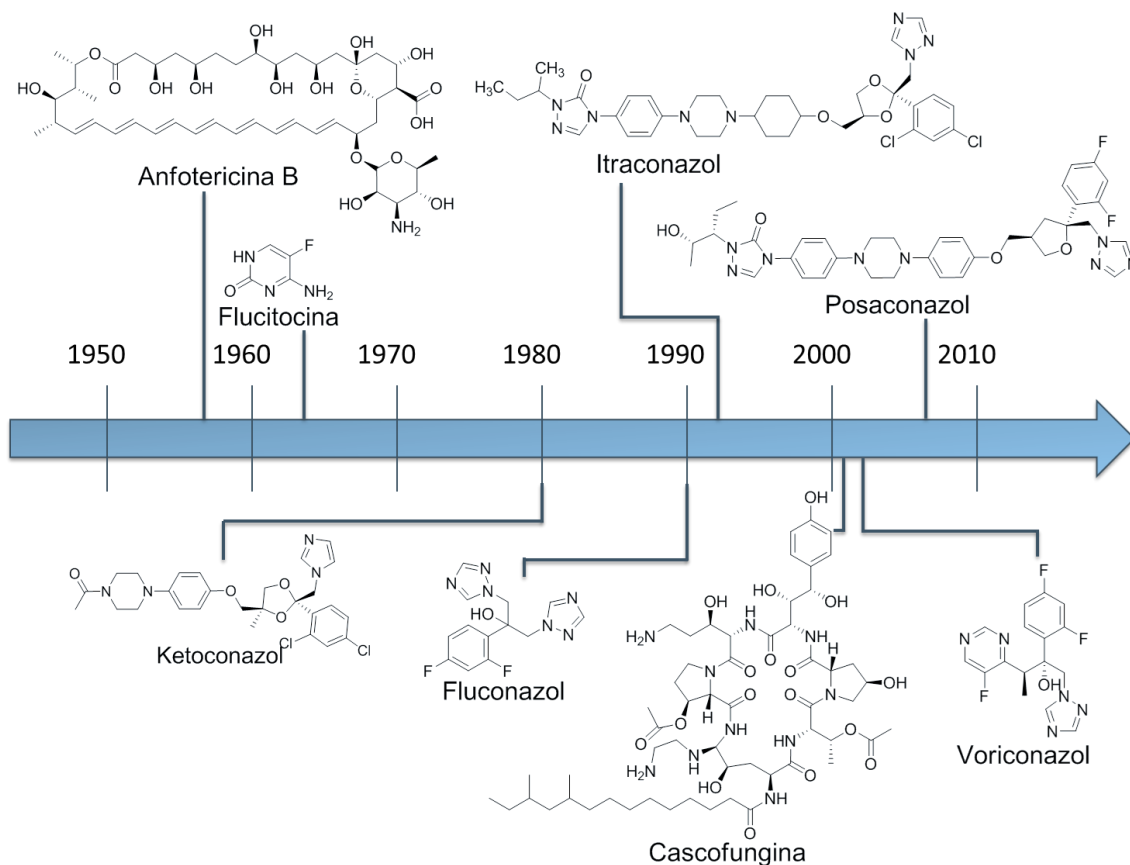
El uso de un tipo de agentes antifúngicos que combaten hongos patógenos humanos (fármacos antimicóticos) data desde la mitad del siglo XX con la anfotericina B, y se ha ido desarrollando, dejando a su paso antifúngicos de diferentes tipos como ketoconazol, fluconazol, itraconazol, caspofungina, voriconazol, ravuconazol, pozaconazol y anidulafungina en orden cronológico entre los más importantes (Figura 7) (Yu *et al.*, 2010).

Los polienos, alilaminas, azoles y lipopéptidos son las clases de antifúngicos más usados para combatir las infecciones fúngicas. En la Figura 8 se muestra una imagen simplificada de una célula fúngica, y los principales sitios de acción de los fármacos antifúngicos (Mathew & Nath, 2009). Los polienos se unen al ergosterol de la membrana fúngica mientras que las alilaminas y los azoles actúan en distintas etapas de la biosíntesis del ergosterol inhibiendo las enzimas escualeno epoxidasa y 14 α -lanosterol demetilasa respectivamente. A su vez, la griseofulvina tiene la capacidad de unirse a la tubulina inhibiendo la formación del huso mitótico y la 5-fluorocitosina interfiere con la biosíntesis

del RNA, impidiendo la síntesis de ciertas proteínas esenciales del hongo. Las equinocandinas inhiben la síntesis de polímeros que forman la pared celular fúngica.

Figura 7.

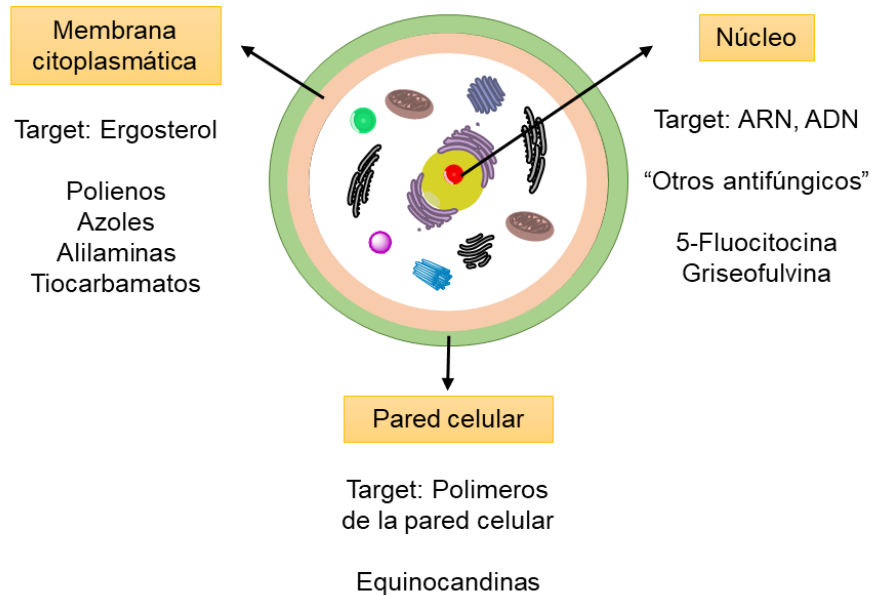
Algunos agentes antifúngicos empleados a través de la historia.



Así, la diana principal, o biomolécula-objetivo (target) es el ergosterol, un esteroles esencial para la membrana de los hongos, y hacia él se han enfocado los esfuerzos para la obtención y/o síntesis de nuevos compuestos antifúngicos.

Figura 8.

Imagen simplificada de la célula fúngica con los principales blancos (target), un lugar de acción de los antifúngicos.



Antifúngicos que intervienen en la membrana citoplasmática

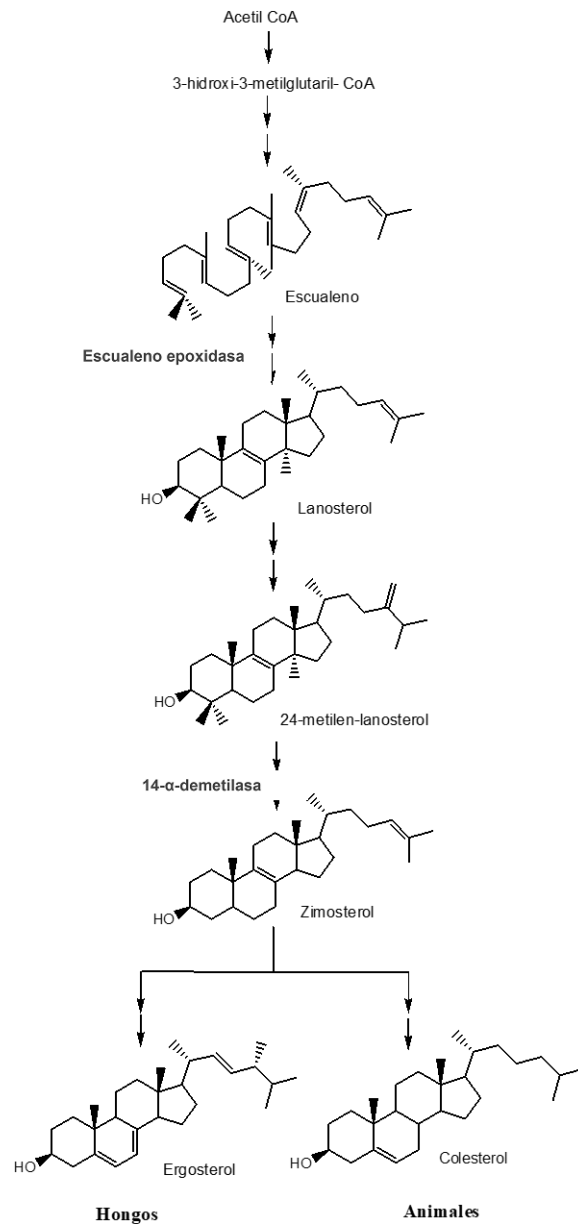
La membrana citoplasmática de los hongos es indispensable para su viabilidad, actúa como barrera de permeabilidad, conducto para el transporte de pequeñas moléculas, participa en la transmisión de señales involucradas en la regulación del ciclo celular, así desempeña una importante función en la división celular y en el metabolismo (Hector, 2005). Está formada por una bicapa semejante a la de mamíferos, constituida por fosfolípidos, esfingolípidos y esteroides.

Las complejas moléculas lipídicas llamadas esteroides constituyen aproximadamente el 25% de la membrana. En las células fúngicas, el ergosterol es el esteroide que predomina a diferencia de las células de los mamíferos donde el principal es el colesterol. Los antifúngicos del tipo alilaminas (terbinafina, naftifina) y tiocarbamatos (tolnaftato, tolclato) inhiben la enzima escualeno epoxidasa, enzima que convierte el escualeno en lanosterol, a partir del cual se forma ergosterol, y de esta forma disminuye la concentración de ergosterol, aumentan los niveles de escualeno, aumenta la permeabilidad de la membrana celular interrumpiendo la organización celular y disminuyendo así el crecimiento del hongo (Barrett-bee & Ryder, 1992).

Los azoles constituyeron uno de los principales avances de la micología. Su amplio espectro de actividad modificó el panorama de los antifúngicos en unos años en los que sólo existía la anfotericina B y la 5-fluorocitosina (Ruiz-Camps & Cuenca-Estrella, 2009).

Figura 9.

Ruta de biosíntesis del ergosterol (Barrett-bee & Ryder, 1992).

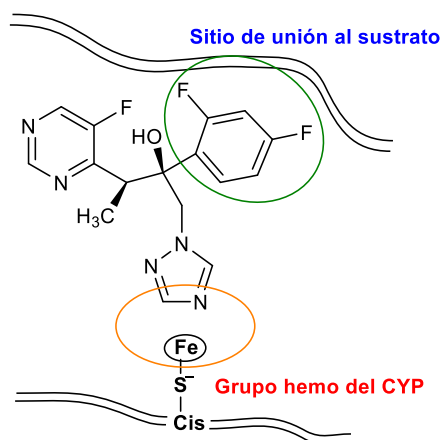


Entre los azoles, tanto los imidazoles como los triazoles actúan como inhibidores de la C-14- α -desmetilasa del lanosterol (una enzima del citocromo P-450 del hongo), enzima necesaria en la biosíntesis del ergosterol a través de un mecanismo propuesto en el cual el átomo azólico del azol antifúngico (C=N) se une al átomo de hierro del grupo hemo de la

hemoproteína causando su inhibición (Figura 10) (Georgopapadakou & Walsh, 1996). Esto ocasiona la acumulación de C-14- α -metilesteroles (con efectos tóxicos) y la reducción de la concentración de este esteroles esencial para la membrana de los hongos, interrumpiendo el crecimiento de los mismos.

Figura 10.

Interacción entre la molécula del triazol y la enzima esteroles-14-demetilasa (CYP) (Sádaba, García-Quetglas, & Azanza, 2004)



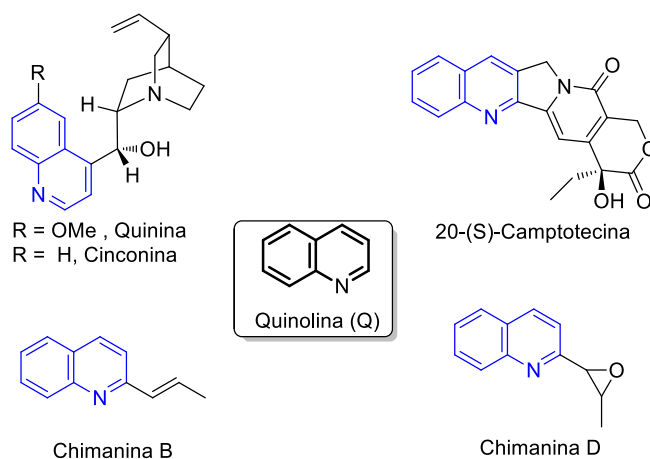
1.5 Importancia de las (hidroxi)quinolinas y azoles

Los numerosos derivados quinolínicos se destacan entre otros heterociclos como moléculas de mucho potencial tanto en la química medicinal y farmacéutica como en la agroquímica exhibiendo una excepcional versatilidad sintética y una amplia gama de actividades biológicas. Entre los alcaloides quinolínicos conocidos, estudiados y utilizados se encuentra la quinina y la cinconina, que fueron aislados de la *Chinchona officinalis* en

1820 (Cragg & Newman, 2013) y que adquirieron gran importancia en la lucha contra el *Plasmodium falciparum*; camptotecina, aislada en 1966 del árbol *Camptotheca acuminata* empleada como potente agente anticancerígeno (Lopez-Meyer, Nessler, & McKnight, 1994) involucrada en los procesos de replicación y transcripción del ADN (Staker et al., 2005) inhibiendo la enzima topoisomerasa I, y las chimaninas B y D aisladas de la *Galipea Longinflora* con importante actividad antiparasitaria (Fournet et al., 1993) (Figura 11).

Figura 11.

Quinolinas de origen natural que presentan actividad biológica.



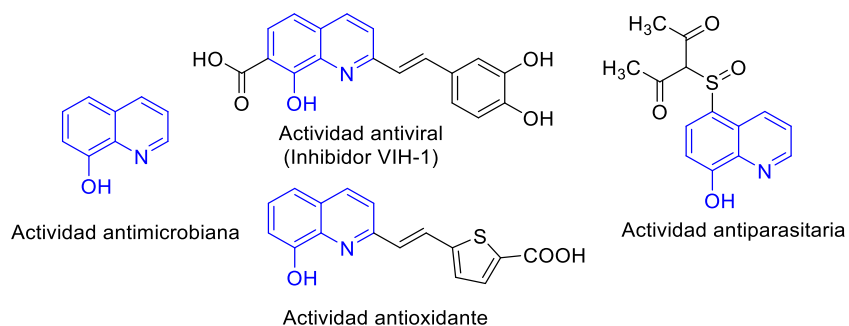
Basados en el amplio espectro de actividades biológicas encontradas en las moléculas quinolinas aisladas o de origen natural, los químicos orgánicos se han dado a la tarea de generar librerías de estos sistemas por medio de diferentes rutas sintéticas (Bharate, Vishwakarma, & Bharate, 2015; Marella et al., 2013; Melendez-Gómez & Kouznetsov, 2005; Prajapati, Patel, Vekariya, Panchal, & Patel, 2014; Ramann & Cowen, 2016) obteniendo así sistemas de importancia biológica, con actividad antifúngica, antimalárica

(Kumar, *et al.*, 2010), antiinflamatoria (Ratheesh, Sindhu, & Helen, 2013), anticancerígena (Afzal *et al.*, 2015), entre otras.

Particularmente, la 8-hidroxiquinolina es un ligando excelente para los iones divalentes (Prachayasittikul *et al.*, 2013) y reconocido sistema farmacofórico; en sí misma, la 8-hidroxiquinolina constituye una molécula plana heteroaromática privilegiada y sus derivados exhiben múltiples actividades biológicas pronunciadas (Xu *et al.*, 2015). Históricamente, de las actividades más estudiadas es la actividad antimicrobiana (Darby & Nathan, 2010). Sin embargo, las otras propiedades no menos importantes que muestran las 8-hidroxiquinolinas son las actividades anticancerígena, insecticida, antifúngica (figura 1) y las actividades antioxidante (Wei *et al.*, 2008), antiviral (VIH-1) (Cotelle, 2006) y actividad antiparasitaria (Eweas *et al.*, 2013) (figura 11), lo que demuestra que la 8-hidroxiquinolina es un grupo farmacofórico excepcional y por ende, que sus derivados son interesantes andamios moleculares a la hora de buscar compuestos con las propiedades antiparasitarias pronunciadas.

Figura 12.

Derivados de la 8-hidroxiquinolina que presentan actividad biológica.

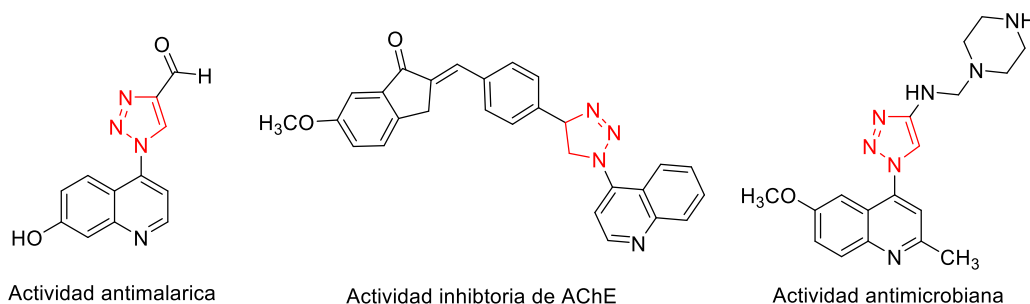


Por su parte, los azoles son otra clase importante de heterociclos que poseen una amplia gama de usos terapéuticos y han sido empleados en muchos productos farmacéuticos y en control de plagas. En particular, los imidazoles y triazoles polifuncionalizados pueden actuar como grupos farmacofóricos o servir como puentes (o como grupos isostéricos) entre dos o más moléculas de interés en la metodología de hibridación molecular. Aunque muchos triazoles han mostrado importante actividad antifúngica, es importante resaltar que los triazoles presentan otras diversas e importantes actividades biológicas mencionadas en la En el presente proyecto primero se diseñó, sintetizó y se caracterizó una nueva serie de moléculas híbridas conjugados y fusionados, (hidroxi)quinolin-azoles (TA-HQus y TA-Qus) y luego se realizó su prospección biológica (principalmente, actividad antifúngica e insecticida) como posibles agentes agroquímicos para la protección de cultivos económicamente importantes en Colombia, *e.g.*, la palma aceitera (*Elaeis guineensis Jacq*), maíz (*Zea mays* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.)

Figura 2 y en la Figura 13: la actividad antimalárica (Boechat et al., 2014), actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), asociada a importantes enfermedades como el Alzheimer (Mantoani et al., 2016), y la actividad antimicrobiana (Agalave, Maujan, & Pore, 2011b).

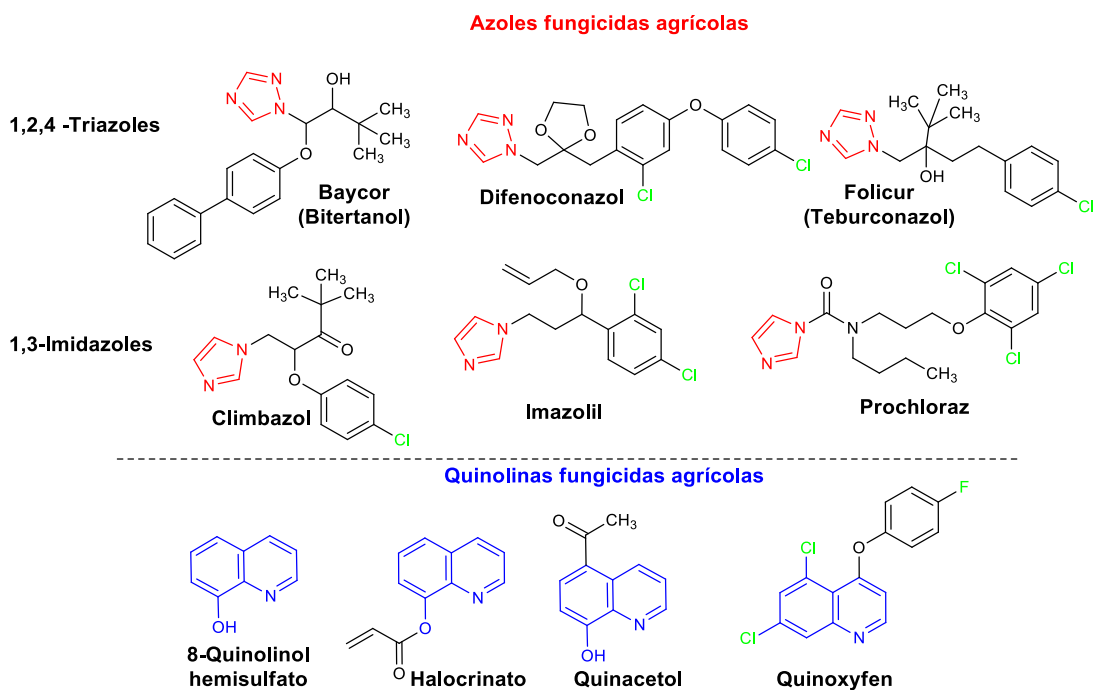
Figura 13.

Compuestos que contienen el anillo triazólico con actividad biológica.



En la protección de cultivos se han empleado diferentes agentes fungicidas que han ayudado a lo largo de los años al control de plagas. Así, se encuentran en la literatura diferentes ejemplos de estos compuestos que contienen en su estructura molecular los azoles y las quinolinas como farmacóforos indispensables y responsables de su bioactividad.

Comparando su naturaleza química, se evidencia la presencia de halógenos (cloro o bromo) en la estructura de algunos fungicidas agrícolas, por ejemplo, derivados de azoles - baycur, difenoconazol, folicur, climbazol, imazolil, procloraz y derivados de quinolinas – la misma 8-hidroxiquinolina, halocrinato, quinacetol y el quinoxifen que se muestran en la figura 14.

Figura 14.*Fungicidas agrícolas con anillo azoles y quinolina.*

Por lo consiguiente, se establece como un parámetro indispensable en el desarrollo del presente proyecto, la variación de la naturaleza química de los sustituyentes halogenados o no, dentro de los anillos aromáticos, consiguiendo una gama amplia de entidades químicas estructuralmente diferente.

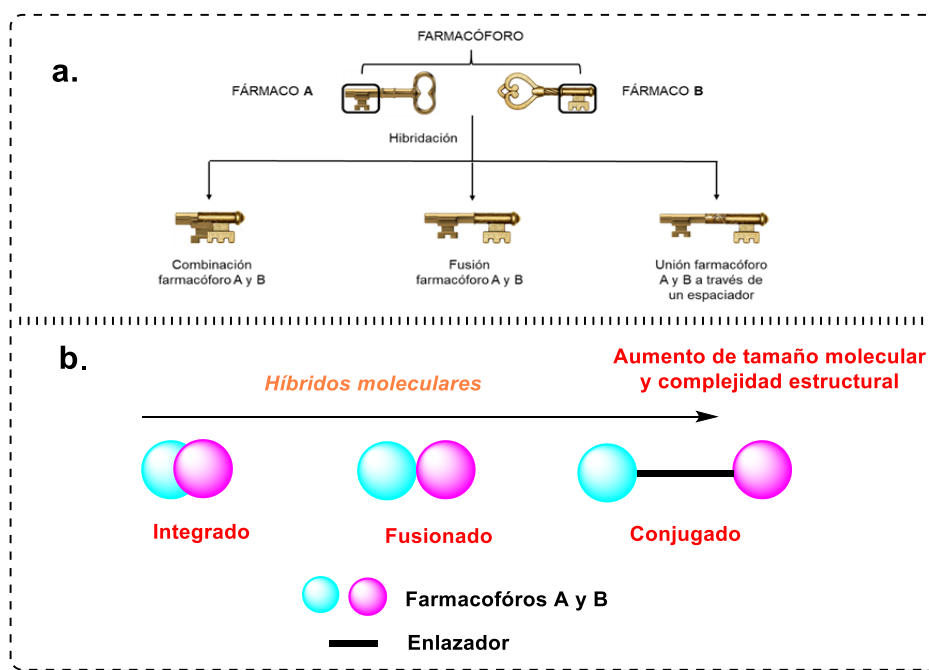
1.6 Hibridación molecular

La técnica de hibridación de moléculas biológicamente activas, es una estrategia de diseño racional de nuevas entidades moleculares, basada en el reconocimiento de subunidades farmacofóricas en compuestos biológicamente activos que, a través de una

adecuada fusión de ellas, conducen a la construcción de nuevas arquitecturas híbridas que mantienen las características preseleccionadas y podrían potenciar así su actividad (Bérubé, 2016; Yempala *et al.*, 2012).

Basados en las propiedades fisicoquímicas y farmacológicas de las subunidades de partida, la toxicidad y mecanismo de acción, es posible la generación de librerías moleculares con información relevante como, por ejemplo, el modo de interacción con una diana específica y la relación estructura-actividad haciendo más eficiente y racional el diseño de nuevos fármacos y/o agroquímicos. Actualmente se emplea esta estrategia de síntesis con el fin de lograr una mejora en la actividad biológica final del compuesto, mayor selectividad en la diana de estudio y disminuir la toxicidad de los agentes farmacológicos empleados.

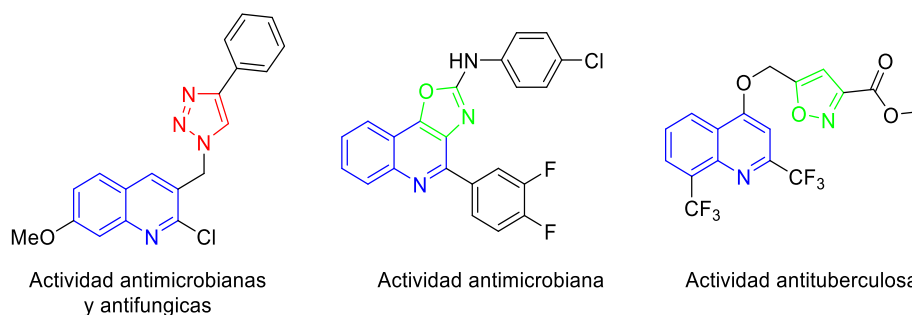
En consecuencia, las denominadas moléculas con "dos cabezas" se han vuelto muy populares. En general, los híbridos moleculares se pueden clasificar en tres grupos según la unión de las subunidades farmacofóricas así: híbridos combinados donde los farmacóforos se encuentran subyacentes (llamados "integrados"), híbridos fusionados en los cuales los farmacóforos existen como unidades completas sin superposición (pueden ser llamados como "íntimos") y, finalmente, los híbridos conjugados donde, generalmente, los farmacóforos se encuentran separados por un grupo llamado espaciador (enlazador) el cual no pertenece específicamente a ninguna de las subunidades (Luna Parada, Vargas Mendez, & Kouznetsov, 2018; Nepali *et al.*, 2014) (Figura 15).

Figura 15.*Hibridación molecular: clasificación de los híbridos.*

En años recientes, los derivados de la quinolina fusionados y/o sustituidos con anillos heterocíclicos han demostrado tener actividades biológicas significativas, especialmente, actividades contra malaria (Kouznetsov & Gómez-Barrio, 2009; Nqoro *et al.*, 2017). La sustitución con un anillo 1,2,3-triazol en la posición C-3 de los derivados 2-cloro-quinolina mostró mejorar sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Kategaonkar *et al.*, 2010). Así mismo, se encontraron quinolinas las cuales, al ser unidas con otros farmacóforos heterocíclicos como oxazol e isoxazol, presentaron actividades antimicrobiana y antituberculosa (Fernández-Galleguillos, Saavedra, & Gutierrez, 2014) (Figura 16).

Figura 16.

Compuestos híbridos con anillos quinolínicos y heterociclo de 1,2,3-triazol, oxazol e isoxazol.



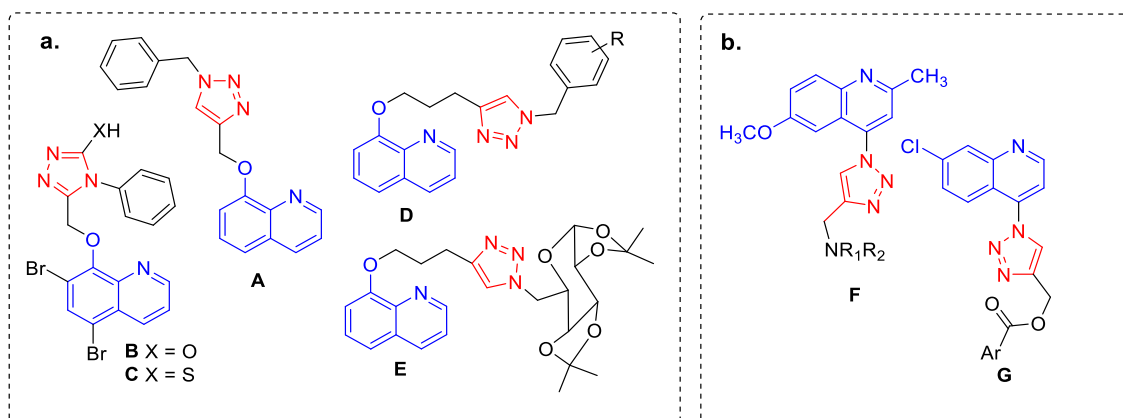
La revisión bibliográfica muestra un gran número de trabajos dedicados a la preparación y evaluación biológica de los híbridos basados en la unión entre el núcleo quinolínico y el ciclo del triazol (Kouznetsov, Vargas-Méndez, & Zubkov, 2016). Sin embargo, hasta ahora, se encuentran pocas publicaciones con ejemplos de híbridos moleculares tipo triazol-8-hidroxiquinolinas (TA-HQus).

La figura 17a presenta estructuras de algunos híbridos TA-HQus: El compuesto **A** mostró actividad en ensayos *in vitro* contra tres cepas de hongos *Candidas* con valores comparables o superiores al fluconazol (Irfan et al., 2015), mientras que los híbridos **B-E** exhibieron actividad importante antiproliferativa (Arafa et al., 2013; de O. Freitas *et al.*, 2014).

Los híbridos quinolin-triazólicos fusionados **F** y **G** mostraron actividades antimicrobiana y antimalárica promisorias (Boechat *et al.*, 2014; Pereira, Brandão, *et al.*, 2014; Thomas, Adhikari, & Shetty, 2010) (figura 17b).

Figura 17.

Ejemplos de híbridos conjugados tipo TA-HQus y híbridos fusionados tipo Qu-TA.



1.7 Aspectos sintéticos de la obtención de híbridos (hidroxi)quinolin-azoles

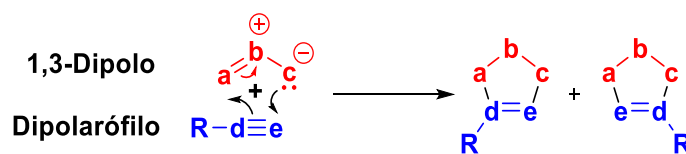
Aunque históricamente, el núcleo quinolínico ha sido foco de grupos de intensa investigación por sus importantes usos terapéuticos hallados en extractos naturales y en moléculas de origen sintético, no lo fue así el núcleo 1,2,3-triazólico ya que son muy pocos los reportes que se encuentran de este farmacóforo en moléculas de origen natural. Sin embargo, no fue sino hasta los años '60, cuando el Profesor Rolf Huisgen estudió la reacción de alquinos y diferentes dipolos, conocida más adelante como reacción de cicloadición 1,3-dipolar (Huisgen, 1963). Con este descubrimiento el desarrollo de la reacción de Huisgen se empezaron a evidenciar las profundas bondades de esta clase de heterociclos frente a diferentes actividades biológicas.

1.7.1 Reacciones de cicloadición 1,3-dipolar

Las reacciones de cicloadición 1,3-dipolares, en donde un 1,3-dipolo interactúa con un dipolarófilo, son uno de los métodos de construcción de heterociclos de cinco miembros más empleado (Hassner, 2008; Padwa & Pearson., 2002) (Figura 18). Así, un dipolo se define como una especie que puede ser representada mediante una estructura de octete dando lugar a cicloadiciones con sistemas insaturados ó dipolarófilos experimentando en ellas la pérdida de cargas formales.

Figura 18

Reacción de cicloadición 1,3-dipolar.



La versatilidad de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar es evidente si se distinguen dos tipos de 1,3-dipolos: los de tipo alilo y los de tipo propargilo. Los primeros se caracterizan por poseer cuatro electrones (dos π y un par libre) paralelos perpendiculares al plano del dipolo, mientras que los de tipo propargilo poseen además un orbital π extra ortogonal al orbital molecular del dipolo con un átomo de nitrógeno como átomo central (Carey & Sundberg, 2007). Algunos ejemplos de estos dipolos se muestran en figura 19.

Las azidas entran en el grupo de los 1,3-dipolos tipo propargilo descubiertas por Greiss en 1864 (Bräse & Banert, 2010) y han sido ampliamente empleadas en química en diferentes tipos de reacciones (Bräse, Gil, Knepper, & Zimmermann, 2005). Así, las azidas son capaces de reaccionar con diferentes dipolarófilos para formar un anillo de cinco miembros, si el dipolarófilo es un alquino, los productos que se forman son 1,2,3-triazoles, que dependiendo de las condiciones de reacción darán cada uno de los regio-isómeros (1,4-) y (1,5-) o la mezcla de ellos (Figura 20).

Figura 19

Tipos y principales ejemplos de 1,3-dipolo.

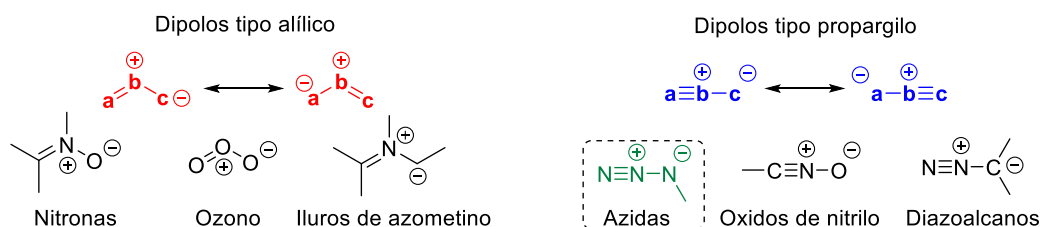
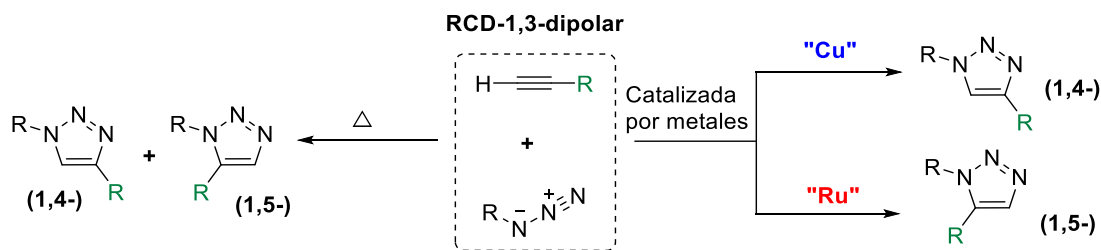


Figura 20

Regioselectividad de la reacción de cicloadición (RCD) 1,3-dipolar entre azidas y alquinos.



1.7.2 *Click Chemistry*

El acceso a los híbridos moleculares que posean el núcleo quinolínico junto al anillo del triazol se puede dar gracias a “*click chemistry*” (química clic), un concepto acuñado por el Profesor K. B. Sharpless y colaboradores (Kolb, Finn, & Sharpless, 2001) para la cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos en su versión catalizada por cobre (I). En esta se establece una metodología efectiva y versátil en la síntesis orgánica para la construcción de un sinnúmero de moléculas diferentes que incluyan dentro de su esqueleto el anillo triazólico. Esta formación de heterociclos no es la única que se encuentra dentro de la metodología llamada química clic, pero si es una de las más ampliamente utilizadas debido a su eficiencia y tolerancia a las variaciones en la naturaleza de sus componentes.

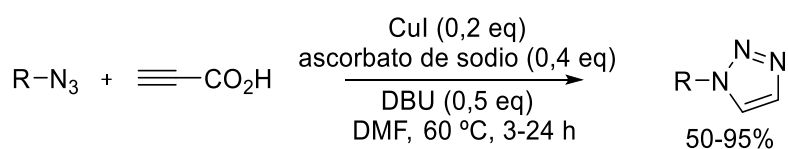
En 2001, Sharpless y sus colaboradores definieron el concepto de reacción clic, con el objetivo de unir dos bloques moleculares como una reacción fácil, selectiva y de alto rendimiento (Rostovtsev et al., 2002) precisando ciertos requisitos de la reacción clic. Para que una reacción sea considerada estrictamente de tipo clic debe cumplir con ciertos requerimientos como tales: *a.* Ser fácil de llevar a cabo experimentalmente y a través de reactivos rápidamente disponibles; *b.* Ser altamente selectiva y regio-específica; *c.* Ser insensible al oxígeno o al agua, entre otros (Kolb & Sharpless, 2003). La reacción clic más utilizada que puede cumplir con estos requisitos es la cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (CuAAC) (Liang & Astruc, 2011). Otras reacciones conocidas como reacciones clic son la adición de Michael y la cicloadición Diels-Alder, entre otras.

En el año 2002, el grupo del Profesor Sharpless y el grupo del Profesor Meldal reportaron independientemente una catálisis eficiente del cobre en la reacción de cicloadición entre azida y alquino (Rostovtsev et al., 2002; Tornøe, Christensen, & Meldal, 2002). La versión no catalizada de esta reacción se conoce como la reacción de cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen desde el año 1963 cuando se reportó la primera síntesis de 1,2,3-triazoles.

La reacción de Huisgen produce una mezcla de productos 1,4- y 1,5-disustituidos, mientras que la reacción catalizada por cobre de alquinos terminales es completamente selectiva en la formación de triazoles 1,4-disustituidos con una variedad de catalizadores de Cu(I) (llamado protocolo de Meldal-Tornøe) o de precursores de catalizadores de Cu(II) en presencia de agentes oxidantes (conocido como protocolo de Sharpless-Fokin) (Rostovtsev et al., 2002) (ver, Figura 20). Así, la reacción CuAAC ha cobrado gran importancia como una reacción tipo clic. Las razones de su éxito radican en su vasta aplicación a diferentes tipos de estructuras químicas (proteínas, alcaloides, entre otros) así como en su fácil manera de llevarse a cabo. De hecho, no se ve afectada por una gran variedad de grupos funcionales y se puede obtener con una gran cantidad de fuentes de Cu o disolventes que incluye el agua.

Figura 21.

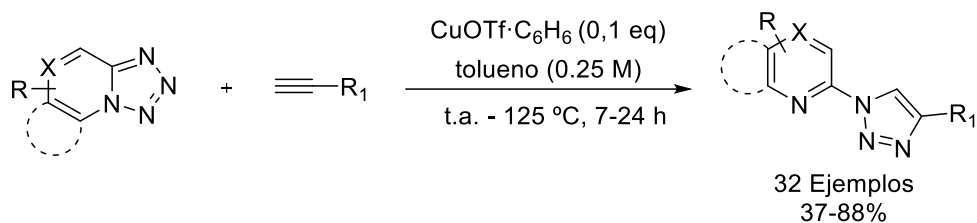
Síntesis de 1,2,3-triazoles monosustituidos mediante un proceso clic/descarboxilación empleando CuI como fuente de átomos de cobre.



El catalizador de Cu(I) puede ser introducido dentro del sistema de cuatro maneras diferentes. La primera de ellas es que especies de Cu(I) sean introducidas directamente en forma de sales de cobre, por ejemplo, CuI (Figura 21) o CuOTf·C₆H₆ (Figura 22), para ello se requiere el uso de una base de nitrógeno (han sido reportadas trietilamina, piridina, entre otras). Este método presenta como mayor desventaja la formación de diacetilenos, bistriazoles y 5-hidroxitriazoles como productos secundarios (Xu, *et al.*, 2011).

Figura 22.

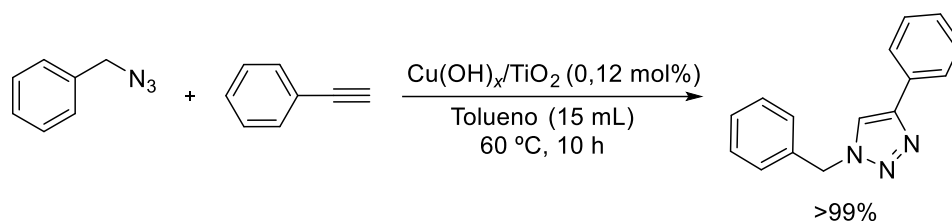
Síntesis de 1,2,3-triazoles empleando CuOTf·C₆H₆ como fuente de átomos de cobre.



La segunda manera puede ser emplear un sistema Cu(0)/Cu(II) en el cual por reacción de conmutación entre sus especies, se forma la de la especie Cu(I) deseada (Yamaguchi *et al.*, 2009). Este sistema es muy empleado cuando los sustratos de reacción son susceptibles a reacción con ácido ascórbico o sus productos de oxidación (Himo *et al.*, 2005) (Figura 23).

Figura 23.

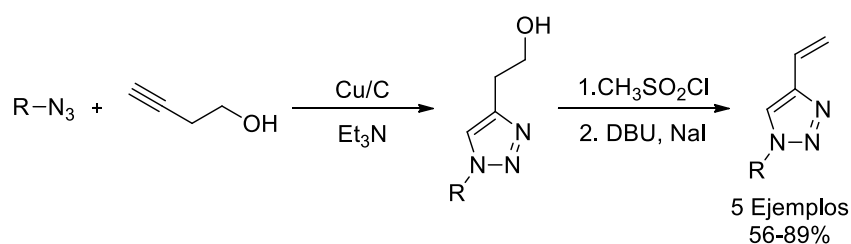
Síntesis de 1,2,3-triazoles empleando hidróxidos de cobre soportado en óxido de titanio.



En tercer lugar, se encuentra el cobre inmovilizado sobre carbono (Cu/C), que puede ser activado mediante el uso de trietilamina o el uso de calentamiento por microondas. La ventaja de este sistema catalítico es que puede ser removido fácilmente de la mezcla de reacción (filtrado sobre celita) y puede ser recuperado (se ha reportado que no pierde la actividad catalítica después de tres veces de uso) (Figura 24) (Holla *et al.*, 2005; Lipshutz & Taft, 2006).

Figura 24.

Síntesis de vinil-1,2,3-triazoles empleando Cu/C como sistema catalítico.



Finalmente, las especies de Cu(I) pueden ser introducidas mediante la reducción de sales de Cu(II) con ácido ascórbico o ascorbato de sodio (5-10%). Por el hecho de que estas

sales de Cu(II) son relativamente económicas ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y que es un sistema simple pero muy confiable, ésta resulta ser la ruta preferida (Hein & Fokin, 2011).

En cuanto al uso del disolvente, la cicloadición azida-alquino catalizada por cobre ha tenido gran versatilidad, pasando tanto por solventes orgánicos, acuosos así como mezclas entre ellos. Las condiciones más comunes reportadas son el empleo de sulfato de cobre y 10 equivalentes de ascorbato de sodio en un solvente como agua o alcohol (que normalmente es el *tert*-butanol, metanol o el etanol).

La mezcla tanto de la fase acuosa como de la fase orgánica obedece al hecho experimental de poder solubilizar tanto los sustratos como las especies de cobre formadas y lograr así una óptima velocidad de reacción. Los disolventes polares favorecen el paso de la formación de enlaces heterociclos y la solubilidad de sustratos y catalizadores, pero si éstos están coordinando pueden inhibir o hacer más lento el paso de coordinación metal-sustrato requerido.

1.7.3 Mecanismo de reacción

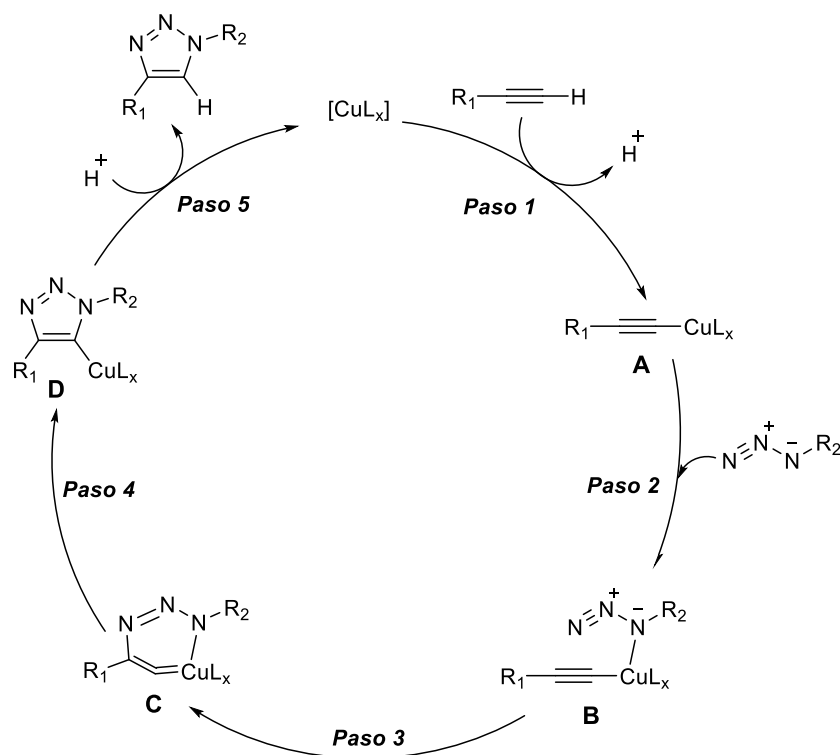
La cicloadición 1,3-dipolar catalizada por cobre entre una azida y un alquino terminal es una de las transformaciones químicas más populares con aplicaciones que van desde la química de materiales hasta las ciencias de la vida. Sin embargo, a pesar de muchos estudios realizados sobre su mecanismo de reacción está aún en debate.

El mecanismo de reacción de la cicloadición azida-alquino catalizada por átomos de cobre se ha propuesto bajo estudios cinéticos y cálculos de teoría del funcional de la densidad (DFT). Un primer mecanismo aceptado como válido consistía en un mecanismo por etapas (Figura 25). El primer paso radica en la coordinación del alquino al Cu(I), formando un intermedio A tipo acetiluro de cobre, seguido de la desprotonación del alquino terminal producido por una base o en ausencia de esta por la coordinación π del triple enlace al átomo de cobre.

Seguidamente se coordina la azida que actúa como ligando débil σ -donador al átomo de cobre, formando una especie B. La adición nucleófila del átomo de nitrógeno terminal de la azida al carbono sustituido del acetileno conduce a un metalciclo C, que tras un proceso de contracción del anillo da lugar a un 3-triazolil complejo de cobre D (Suárez, 2012). Este intermedio ha podido ser aislado del medio de reacción mediante su estabilización estérica con ligandos auxiliares voluminosos (**L**) (Nolte, Mayer, & Straub, 2007). Por último, se encuentra una etapa de protonación donde se libera el triazol formado y se regenera el catalizador (Figura 25).

Figura 25.

Primer acercamiento al posible mecanismo de reacción CuAAC.

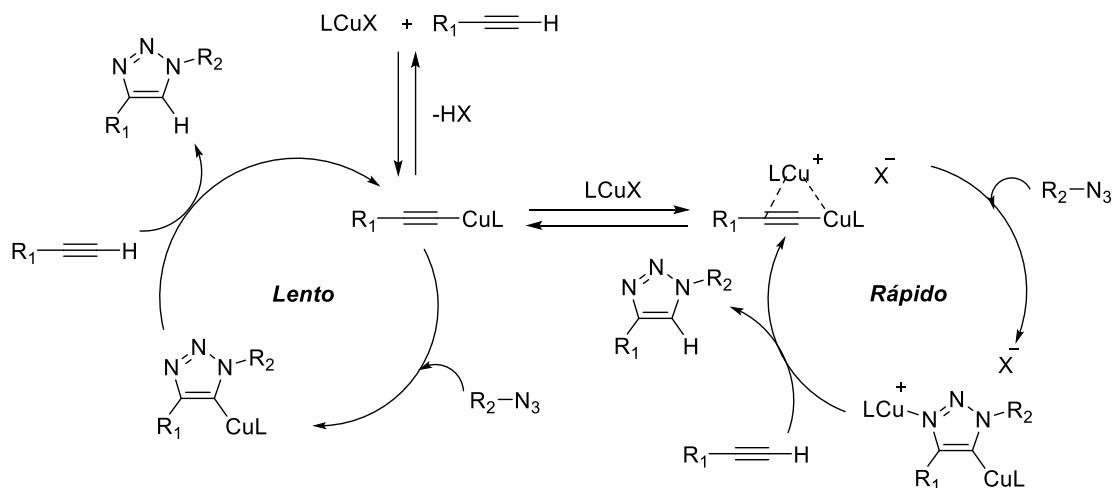


No obstante, esta propuesta mecanística considera la participación de especies mononucleares de cobre, más la observación y estudio directo de los componentes claves del ciclo catalítico no había sido posible. Estudios posteriores han mostrado un comportamiento cinético discontinuo conforme transcurre la reacción, siendo la cinética de segundo orden respecto al cobre a bajas concentraciones de catalizador, lo que sugiere la participación de especies binucleares (Rodionov et al., 2007). Esto ha sido confirmado por Guy Bertrand y colaboradores quienes han podido aislar unos intermediarios clave (π,σ -bis (cobre) acetiluro) que sugieren un mecanismo plausible (Jin et al., 2015). El aislamiento de los dos tipos de

complejos (acetiluros de mono y bis cobre) demuestra que, aunque ambas especies son activas en el ciclo catalítico, el complejo binuclear está cinéticamente favorecido (Figura 26).

Figura 26.

Posibles rutas del mecanismo de reacción CuAAC.



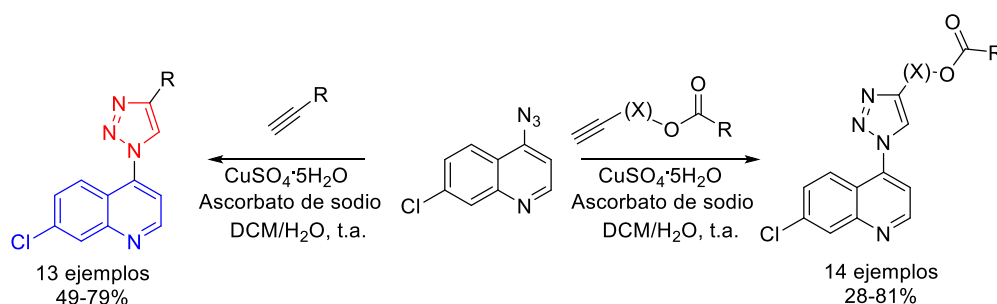
La metodología CuAAC ha sido útil en la incorporación del anillo 1,2,3-triazólico en moléculas híbridas, bien sea como farmacóforo o como puente de algún otro heterociclo, combinándolos en una sola molécula para mejorar su perfil biológico (Agalave, Maujan, & Pore, 2011a).

1.8 Antecedentes de investigaciones relacionadas con el presente trabajo

En la literatura ya se encuentran varios ejemplos de moléculas híbridas en las que se encuentran los dos heterociclos objeto de este estudio: las quinolinas y los 1,2,3-triazoles, en donde éstos últimos pueden actuar como farmacóforo o enlazador y a continuación se detallan algunos ejemplos relevantes.

Figura 27.

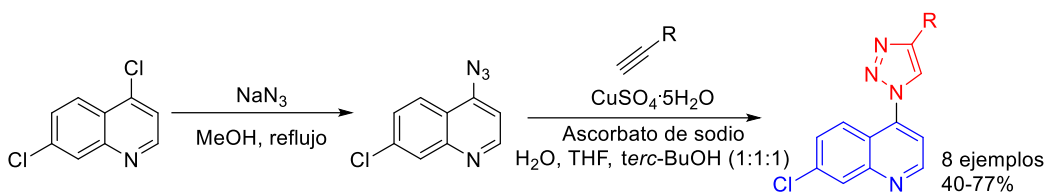
Preparación de los derivados del 7-cloroquinolin-triazoles mediante reacción CuAAC en mezcla de DCM-agua.



En 2014, dos grupos brasileños propusieron los derivados 7-cloroquinolin-triazólicos como posibles agentes en la lucha del *Plasmodium falsiparum*, agente causal de la forma más letal de la malaria. Esto se logró mediante la reacción entre 7-cloro-4-azidoquinolina y varios alquinos comercialmente disponibles o formados previamente, empleando como mezcla de disolventes diclorometano-agua (Pereira *et al.*, 2014) (Figura 27) o mezcla de agua, tetrahidrofurano y *tert*-butanol (1:1:1) (Boechat *et al.*, 2014) (Figura 28), y las condiciones clásicas de generación de cobre catalítico en la metodología CuAAC ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y ascorbato de sodio).

Figura 28.

Síntesis de los 7-cloroquinolin-triazoles mediante reacción CuAAC en mezcla de THF/terc-BuOH y agua



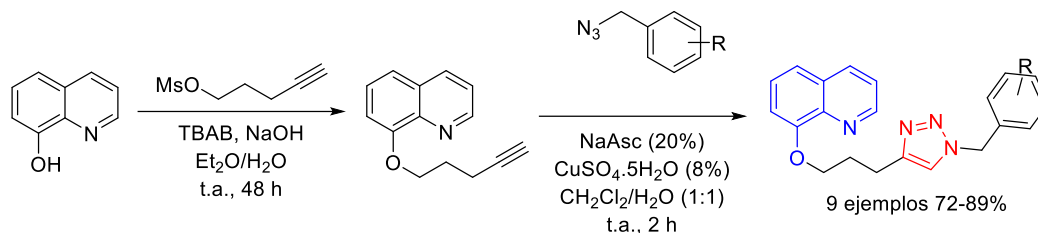
Así mismo, mediante las herramientas descritas (condiciones de reacción CuAAC, protocolo de Sharpless-Fokin) ha sido posible la preparación específica de híbridos 8-hidroxiquinolin-azoles. Por ejemplo, en el 2014 Alves y colaboradores publicaron la síntesis de una serie de nueve 1,2,3-triazoles a partir de la 8-hidroxiquinolina, la cual en una primera etapa, ancla la función alquino al anillo quinolínic y seguidamente, en agitación a temperatura ambiente con diferentes bencil-azidas en una mezcla DCM/H₂O 1:1 con 8% de sulfato de cobre pentahidratado y 20% de ascorbato de sodio, logrando generar los productos de cicloadición en porcentajes que varían desde 72% al 89% (de O. Freitas *et al.*, 2014) (Figura 29).

De igual manera, en el 2015, se publicó la preparación de un nuevo ejemplo de híbrido 8-hidroxiquinolin-azol mediante la metodología click-chemistry. Nuevamente, se parte de la quinolina que se propargila en condiciones básicas con carbonato de potasio. Una vez se aisló y purificó el compuesto propargilado, se sometió a la reacción de cicloadición con bencilazida en una mezcla *tert*-butanol/agua (1:2) con 0,05 equivalentes de sulfato de sodio y 0,01 equivalentes de ascorbato de sodio (NaAsc) en agitación a temperatura ambiente

durante largo periodo (69 horas) obteniendo el híbrido con un rendimiento del 90% (Irfan et al., 2015) (Figura 30).

Figura 29.

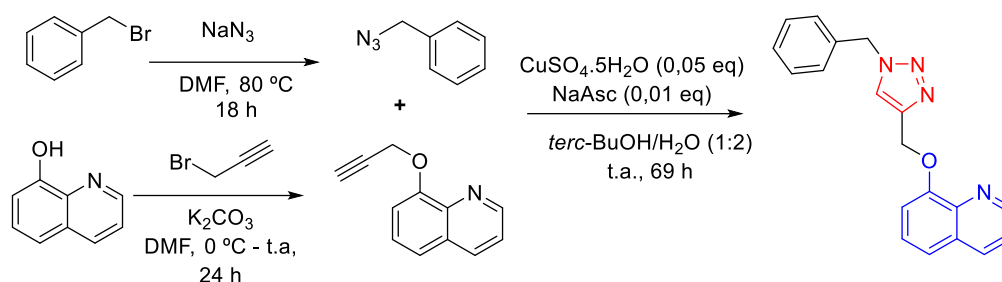
Síntesis de 1,2,3-triazoles mediante reacción de cicloadición dipolar catalizada por átomos de cobre.



Con más de 2000 publicaciones durante su breve período histórico, la reacción de CuAAC se ha convertido en una herramienta poderosa e insustituible en síntesis orgánica, que está en constante desarrollo. Las aplicaciones de esta metodología para la obtención de los híbridos mencionados no solo enriquecen la química médica, sino también la química agrícola y orgánica. Sin embargo, teniendo en cuenta que el alcance de la reacción de CuAAC es impresionante, es de notar que la síntesis de triazoles a base de quinolina está menos desarrollada comparando con los demás híbridos de triazoles.

Figura 30.

Síntesis de híbrido 8-hidroxiquinolin-azol separado por un espaciador corto.



De hecho, todos los híbridos de Qu-TA discutidos en esta revisión son triazoles 1,4-sustituídos, mientras que los triazoles completamente decorados y funcionalizados que contienen una unidad de quinolina son aún desconocidos. Además, los trabajos publicados sobre la bio-evaluación de los híbridos quinolin-triazólicos se enfocan solo al desarrollo de nuevos agentes farmacológicos con miras su aplicación en la medicina. Hay poca información sobre la capacidad biológica de estos heterociclos híbridos como agentes agroquímicos de acción fungicida. Tampoco se encuentran estudios sobre su actividad insecticida y antialimentaria contra insectos plaga.

En este contexto, los resultados preliminares del presente trabajo abren un camino para el desarrollo de nuevos modelos de moléculas con actividad antifúngica y/o insecticida que puedan ser útiles para combatir los hongos y/o insectos que atacan a la palma aceite y al cultivo de maíz.

Siguiendo el plan de la investigación, a continuación se discutirán los aspectos sintéticos de la preparación de los objetos principales en este estudio, - moléculas híbridas, sintetizadas vía las reacciones de cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos terminales.

2. Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas conjugados, TA-HQus

Las quinolinas y los 1,2,3-triazoles son de gran importancia tanto para la química medicinal como agrícola mostrando una amplia variedad de propiedades biológicas interesantes (Holla *et al.*, 2005; Marella *et al.*, 2013). Por esta razón, la combinación de ambos anillos farmacofóricos en una sola molécula para formar híbridos de triazol-quinolina fusionados o conjugados con un perfil biológico enriquecido puede ofrecer un acceso rápido a nuevas entidades químicas, moléculas híbridas, que son necesarias en la investigación de moléculas bioactivas (Sumangala, 2010; Thomas, 2010).

El desarrollo de condiciones para la reacción 1,3-dipolar entre azidas y alquinos en presencia de cobre conocida como reacción click ha permitido el progreso en la investigación sobre síntesis y evaluación biológica de triazoles unidos a anillos quinolínicos. Entre los diversos híbridos triazol-quinolina, los compuestos conjugados de 1,2,3-triazol e 8-hidroxiquinolina son particularmente interesantes. Recientemente, estos híbridos revelaron potentes propiedades inhibitorias contra *Candida spp.* (Irfan *et al.*, 2017), y actividad antiproliferativa selectiva hacia las células cancerosas de ovario (OVCAR-03) (de O. Freitas *et al.*, 2014).

Teniendo en cuenta lo anterior, el presente capítulo muestra en una primera etapa la diversificación estructural del anillo 8-hidroxiquinolina partiendo de sustancias comerciales con el fin de ampliar la cantidad de análogos de 8-HQ (producto comercial)

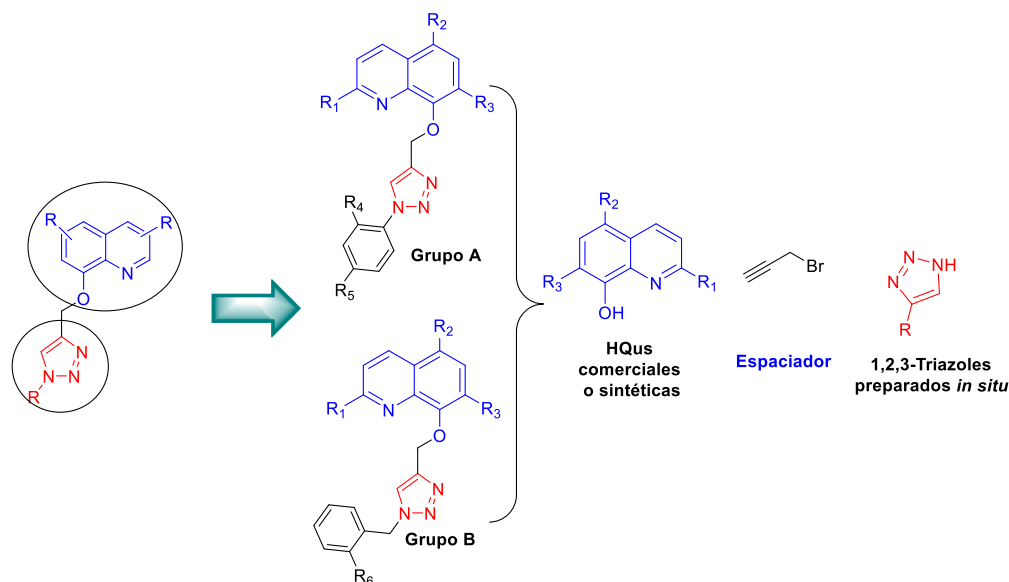
como sustancias de partida para la síntesis posterior de los compuestos híbridos, así como de compuestos a ser evaluados en una posterior prospección biológica (21 análogos sintéticos).

Posteriormente, en la segunda etapa, se empleó la táctica de hibridación molecular para la síntesis de 49 híbridos conjugados hidroxiquinolin-azoles, construidos a partir de los dos heterociclos - las (8-hidroxi)quinolinas (comerciales o sintéticas) y los 1,2,3-triazoles generados *in situ* - a través de reacciones de cicloadición 1,3-dípolar tipo química clic (“click chemistry”) (figura 31). Finalmente, se presenta la síntesis de algunas entidades químicas (“fragmentos moleculares” farmacofóricos) que forma parte en las estructuras de los híbridos conjugados (generación del fragmento azólico).

Cada uno de los productos intermedios y finales sintetizados en cada una de las etapas de las rutas de síntesis diseñadas fueron caracterizados según sus parámetros espectroscopia de infrarrojo IR, espectrometría de masas (EM) y resonancia magnética nuclear de protones (RMN ^1H) y de carbono (RMN ^{13}C).

Figura 31.

Esquema general de síntesis de híbridos conjugados (hidroxi)quinolin-azoles



2. 1 Desarrollo experimental: Consideraciones generales: materiales y métodos

Los puntos de fusión fueron tomados en un aparato de punto de fusión de Fisher Johns (00590Q, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Los espectros IR se registraron en un espectrofotómetro Lumex Infralum (FT-02, Lumex Co., Solon, OH, USA) en KBr.

Los espectros RMN de ¹H y ¹³C se midieron en un espectrómetro Bruker AM-400 (400 MHz RMN ¹H y 100 MHz RMN ¹³C), usando CDCl₃ o DMSO-d₆ como disolventes. TMS se usó como un estándar interno. Los cambios químicos (δ) y los valores *J* se informan en ppm y Hz, respectivamente. Las señales fueron asignadas así: s, singulete; d, doblete; dd, doble doblete; m, multiplete. Se empleó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890a Serie II con un detector selectivo de masas HP 5890a serie II acoplado a un detector selectivo

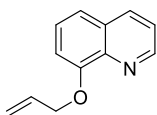
de masas (MSD) HP 5972 con un sistema de datos MS ChemStation de HP (PerkinElmer, Akron, OH, USA) para la identificación de EM a 70 eV utilizando una columna capilar de 60 m recubierta con HP-5 [5% de fenilpoli(dimetilsiloxano)]. El progreso de las reacciones fue monitoreado usando cromatografía en capa fina con placas de silufol UV254.

La purificación de los productos finales se llevó a cabo mediante cromatografía en columna usando gel de sílice y una mezcla eluyente adecuada (diclorometano-metanol 9:1 para los híbridos conjugados).

2.2 Etapa a. Diversificación del anillo 8-hidroxiquinolínico

2.2.1. *O-Alilación de 8-hidroxiquinolinas*

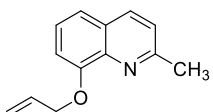
Protocolo general. Se disolvió el derivado de 8-hidroxiquinolina de interés (**Ia-c**) (1 mmol) con carbonato de potasio (3 mmol) en 15 mL de acetona. Se añadió gota a gota bromuro de alilo (2 mmol) y se sometió a reflujo durante 12 horas. Una vez se completó la reacción, se extrajo el compuesto de interés con diclorometano (3 x 15 mL). El extracto orgánico se recogió sobre sulfato de sodio y el disolvente de extracción fue removido mediante rotoevaporación. Los crudos fueron purificados mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo (EP) – acetato de etilo (AcOEt) 3:1 v/v.



8-Aliloxiquinolina (IIa): A partir de 1.0 g (6.89 mmol) de 8-hidroxiquinolona

(**Ia**), 2,86 g (20.7 mmol) de K_2CO_3 y 1.67 g (13.7 mmol) de bromuro de alilo

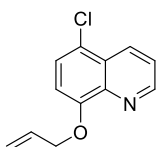
se obtuvo 1.06 g (83% rendimiento) del compuesto. Aceite naranja. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3050, 2922, 1614, 1570, 1077. **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$), δ : 8.92 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2- H_Q), 8.08 (1H, dd, $J = 8.3, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 7.42 – 7.33 (3H, m, 6- H_Q , 3- H_Q , 5- H_Q), 7.03 (1H, dd, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 7- H_Q), 6.19 (1H, ddt, $J = 17.3, 10.6, 5.5$ Hz, 2''- H_a), 5.45 (1H, ddd, $J = 17.3, 3.0, 1.5$, 3''- H_b), 5.31 (1H, ddd, $J = 10.5, 2.6, 1.3$, 3''- H_a), 4.83 (2H, dt, $J = 5.5, 1.3$ Hz, CH_2) ppm. *Anal. Calculado para $C_{12}H_{11}NO$ (185.23 g/mol):* C, 77.81; H, 5.99; N, 7.56; O, 8.64.



8-Aliloxi-2-metilquinolona (IIb): A partir de 0.79 g (5.0 mmol) de 2-

metil-8-hidroxiquinolona (**Ib**), 2.08 g (15.1 mmol) de K_2CO_3 y 1.21 g (10.0

mmol) de bromuro de alilo se obtuvo 0.81 g (81% rendimiento) del compuesto. Aceite amarillo. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2960, 2895, 1503, 1234. **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$), δ : 7.88 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 4- H_Q), 7.23 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, 3- H_Q), 7.16 – 7.12 (2H, m, 5- H_Q , 6- H_Q), 7.01 (1H, dd, $J = 7.5, 1.3$ Hz, 7- H_Q), 6.04 (1H, ddt, $J = 17.1, 10.4, 5.3$ Hz, 2''- H_a), 5.43 (1H, dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 3''- H_b), 5.30 (1H, dd, $J = 10.5, 1.6$ Hz, 3''- H_a), 4.74 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, CH_2), 2.61 (3H, s, CH_3) ppm. *Anal. Calculado para $C_{13}H_{13}NO$ (199.25 g/mol):* C, 78.36; H, 6.58; N, 7.03; O, 8.03.



8-Aliloxi-5-cloroquinolona (IIc): A partir de 0.82 g (4.5 mmol) de 5-cloro-8-

hidroxiquinolona (**Ic**), 1.89 g (13.6 mmol) de K_2CO_3 y 1.10 g (9.1 mmol) de

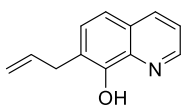
bromuro de alilo se obtuvo 0.78 g (78% rendimiento) del compuesto. Sólido

beige, m.p. 89 - 91 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2945, 2873, 1563, 1483, 1235, 1085. **1H RMN** (400

MHz, DMSO), δ : 8.94 (1H, dd, $J = 4.1, 1.6$ Hz, 2-H_Q), 8.42 (1H, dd, $J = 8.5, 1.6$ Hz, 4-H_Q), 7.66 (1H, dd, $J = 8.6, 4.1$ Hz, 3-H_Q), 7.61 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 6-H_Q), 7.14 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7-H_Q), 6.14 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.6, 5.3$ Hz, 2''-H_a), 5.49 (1H, dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 3''-H_b), 5.30 (1H, dd, $J = 10.5, 1.7$ Hz, 3''-H_a), 4.74 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, CH₂) ppm. *Anal. Calculado para C₁₂H₁₀ClNO (219.67 g/mol):* C, 65.61; H, 4.59; Cl, 16.14; N, 6.38; O, 7.28

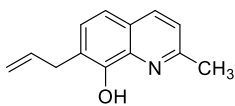
2.2.2 Transposición de Claisen

Protocolo general. La solución de las 8-*o*-aliloxiquinolinas (**IIa-c**) (3-5 mmol) en 1,2-diclorobenceno (1,2-DCB) fue sometida a reflujo durante 15 horas. Seguidamente, se removió el solvente mediante destilación a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice empleando una mezcla éter de petróleo – acetato de etilo (10:1 v/v) como mezcla eluyente



7-Alil-8-hidroxiquinolina (IIIa): Se obtuvo 0.71 g (71% rendimiento) a partir de 1.00 g (5.4 mmol) de compuesto **IIa**. Un aceite amarillo con olor

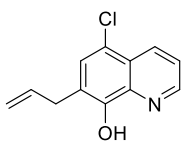
característico. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3130, 2980, 1503, 1401, 1093. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃), δ : 8.76 (1H, dd, $J = 4.2, 1.4$ Hz, 2-H_Q), 8.12 (1H, dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 4-H_Q), 7.50 – 7.46 (2H, m, 6-H_Q, 3-H_Q), 7.30 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 5-H_Q), 6.10 (1H, ddt, $J = 16.6, 10.0, 6.5$ Hz, 2''-H_a), 5.18 – 5.09 (2H, m, 3''-H_b, 3''-H_a), 3.66 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, CH₂) ppm. *Anal. Calculado para C₁₂H₁₁NO (185.23 g/mol):* C, 77.81; H, 5.99; N, 7.56; O, 8.64.



7-Alil-2-metil-8-hidroxiquinolina (IIIb): Se obtuvo 0.64 g (80% rendimiento) a partir de 0.80 g (4.01 mmol) de compuesto **IIb**. Un aceite

amarillo. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3046, 2975, 1501, 1470, 1273. **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, CDCl_3), δ : 7.92 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 4- H_Q), 7.25 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, 3- H_Q), 7.15 – 7.11 (2H, m, 5- H_Q , 6- H_Q), 5.97 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.5, 5.2$ Hz, 2''- H_a), 5.32 (1H, dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 3''- H_b), 5.12 (1H, dd, $J = 10.5, 1.6$ Hz, 3''- H_a), 4.32 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, CH_2), 2.59 (3H, s, CH_3) ppm.

Anal. Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}$ (199.25 g/mol): C, 78.36; H, 6.58; N, 7.03; O, 8.03.



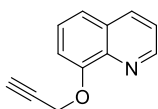
7-Alil-5-cloro-8-hidroxiquinolina (IIIc): Se obtuvo 0.65 g (807% rendimiento) a partir de 0.75 g (3.41 mmol) de compuesto **IIc**. Un sólido

blanco, m.p. 105 – 107 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3077, 2951, 2832, 1241. **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.94 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2- H_Q), 8.46 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4- H_Q), 7.48 (1H, dd, $J = 8.5, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.44 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 6- H_Q), 6.14 (1H, ddt, $J = 17.3, 10.6, 5.5$ Hz, 2''- H_a), 5.43 (1H, dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 3''- H_b), 5.30 (1H, dd, $J = 10.5, 1.3$ Hz, 3''- H_a), 4.80 (2H, dt, $J = 5.4, 1.4$ Hz, CH_2) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ (219.67 g/mol):* C, 65.61; H, 4.59; Cl, 16.14; N, 6.38; O, 7.28.

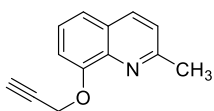
2.2.3 Síntesis de alquinos: Reacción de propargilación

Protocolo general. A una solución del correspondiente derivado de 8-hidroxiquinolinas (**Ia-d**, **IIIa-c**) (1.2 mmol) en 15 mL de acetona se le adicionaron carbonato de potasio (2 mmol) y yoduro de potasio (0.10 mmol) y fue enfriada a 0°C. Se adicionó gota a gota bromuro de propargilo (1 mmol) disuelto previamente en acetona y la solución se dejó

tomar temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. El progreso de la reacción fue monitoreado mediante cromatografía en capa fina empleando como fase móvil éter de petróleo-acetato de etilo 5:1 (v/v). Una vez confirmada la presencia del producto, se añadió agua a la mezcla de reacción para finalizarla. Los compuestos fueron extraídos con acetato de etilo (3 x 20mL), la fase orgánica fue separada y secada sobre Na₂SO₄. El disolvente fue removido mediante rotoevaporación y los compuestos purificados mediante cromatografía en columna de sílica esférica y una mezcla eluyente de éter de petróleo: acetato de etilo de acuerdo con el control de capa fina.

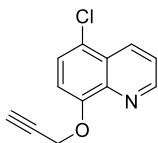


8-(Prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVa): A partir de 0.95 g (6.5 mmol) de 8-hidroxiquinolina (**Ia**), 2.51 g (10.9 mmol) de K₂CO₃, 181 mg (0.5 mmol) de KI y 0.65 g (5.5 mmol) de bromuro de propargilo se obtuvo 0.7 g (70% rendimiento) del compuesto **IVa**. Aceite pardo oscuro. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3135, 2098, 1572, 1443, 751. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.44 (1H, dd, *J* = 4.1, 1.6 Hz, 2-H_Q), 8.09 (1H, dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, 4-H_Q), 7.21 - 7.19 (1H, m, 6-H_Q, 3-H_Q), 7.17 (1H, dd, *J* = 8.5, 4.2 Hz, 5-H_Q) 6.85 (1H, m, 7-H_Q), 4.93 (2H, d, *J* = 2.4 Hz, CH₂), 2.47 (1H, t, *J* = 2.4 Hz, CH) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₂H₉NO (183.21g/mol): C, 78.67; H, 4.95; N, 7.65; O, 8.73.



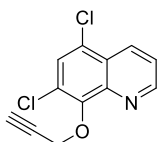
2-Metil-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVb): A partir de 1.94 g (12.1 mmol) de 2-metil-8-hidroxiquinolina (**Ib**), 2.80 g (20.3 mmol) de K₂CO₃, 168 mg (1.0 mmol) de KI y 1.21 g (10.1 mmol) de bromuro de propargilo se obtuvo 1.56 g (78% rendimiento) del compuesto **I**. Aceite amarillo translúcido. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3532, 3115, 2103, 1588, 1102. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.89 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-H_Q), 7.27 - 7.29 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_Q), 7.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 3-H_Q), 7.13 (dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, 7-H_Q), 4.91

(2H, d, $J = 2.4$ Hz, CH₂), 2.67 (3H, s, CH₃), 2.41 (1H, t, $J = 2.4$ Hz, CH) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₃H₁₁NO (197.24 g/mol): C, 79.17; H, 5.62; N, 7.10; O, 8.11.



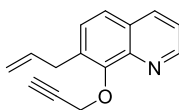
5-Cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVc). A partir de 0.99 g (5.51 mmol) de 5-cloro-8-hidroxiquinolina (**Ic**), 1.27 g (9.2 mmol) de K₂CO₃, 77 mg (0.5 mmol) de KI y 0.54 g (4.6 mmol) de bromuro de propargilo se obtuvo 0.63 g

(63% rendimiento) del compuesto **IVc**. Sólido beige, m.p. 116 – 118 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3147, 2113, 1589, 1496, 1373, 1095. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.94 (1H, dd, $J = 4.2$, 1.7 Hz, 2-H_Q), 8.48 (1H, dd, $J = 8.6$, 1.7 Hz, 4-H_Q), 7.51 (1H, t, $J = 2.1$ Hz, 3-H_Q), 7.49 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, 6-H_Q), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 7-H_Q), 4.98 (2H, d, $J = 2.4$ Hz, CH₂), 2.51 (1H, t, $J = 2.4$ Hz, CH) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₂H₈ClNO (217.65 g/mol): C, 66.22; H, 3.70; Cl, 16.29; N, 6.44; O, 7.35.



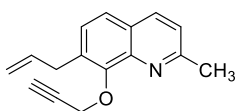
5,7-Dicloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVd): A partir de 1.62g (4.7 mmol) de 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina (**Id**), 1.09 g (7.9 mmol) de K₂CO₃,

66 mg (0.4 mmol) de KI y 0.47 g (4.0 mmol) de bromuro de propargilo se obtuvo 0.84 g (84% rendimiento) del compuesto **IVd**. Sólido blanco, m.p. 107-109 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3213, 2951, 1500, 1420, 1331, 706. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ: 9.05 (1H, dd, $J = 4.2$, 1.6 Hz, 2-H_Q), 8.55 (1H, dd, $J = 8.6$, 1.6 Hz, 4-H_Q), 7.96 (1H, s, 6-H_Q), 7.75 (1H, dd, $J = 8.6$, 4.2 Hz, 3-H_Q), 5.26 (2H, d, $J = 2.5$ Hz, CH₂), 3.51 (1H, t, $J = 2.5$ Hz, CH) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₂H₇Cl₂NO (252.09 g/mol): C, 57.17; H, 2.80; Cl, 28.12; N, 5.56; O, 6.35.



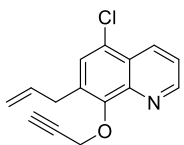
7-Alil-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVe): A partir de 0.70g (3.8 mmol) de 7-alil-8-hidroxiquinolina (**IIIa**), 0.88 g (6.3 mmol) de K₂CO₃, 53 mg (0.3

mmol) de KI y 0.38g (3.2 mmol) de bromuro de propargilo se obtuvo 0.57 g (81% rendimiento) del compuesto **IVe**. Aceite amarillo. IR (KBr, cm^{-1}): 3253, 2916, 1613, 801, 665. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.58 (1H, dd, $J = 4.2, 1.5$ Hz, 2- H_Q), 8.09 (1H, dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, 4- H_Q), 7.40 – 7.36 (2H, m, 6- H_Q , 3- H_Q), 7.20 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 5- H_Q), 6.10 (1H, ddt, $J = 16.6, 10.0, 6.5$ Hz, 2''- H_a), 5.28 – 5.19 (2H, m, 3''- H_b , 3''- H_a), 4.93 (2H, d, $J = 2.4$ Hz, 1'- $\text{CH}_{2\text{alquino}}$), 3.66 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''- $\text{CH}_{2\text{alil}}$), 2.47 (1H, t, $J = 2.4$ Hz, 3'- $\text{CH}_{\text{alquino}}$) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}$ (223.28 g/mol): C, 80.69; H, 5.87; N, 6.27; O, 7.17.



7-Alil-2-metil-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVf): A partir de 0.60 g (3.0 mmol) de 7-alil-2-metil-8-hidroxiquinolina (**IIIb**), 0.69 g (5.0

mmol) de K_2CO_3 , 41 mg (0.3 mmol) de KI y 0.30g (2.5 mmol) de bromuro de propargilo se obtuvo 0.61 g (84% rendimiento) del compuesto **IVf**. Aceite amarillo translúcido. IR (KBr, cm^{-1}): 3372, 3281, 2934, 1508, 1439, 1230, 718. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 7.74 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 4- H_Q), 7.06 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, 3- H_Q), 6.97 – 6.93 (2H, m, 5- H_Q , 6- H_Q), 5.79 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.5, 5.2$ Hz, 2''- H_a), 5.49 (1H, dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 3''- H_b), 5.01 (1H, dd, $J = 10.5, 1.6$ Hz, 3''- H_a), 4.91 (2H, d, $J = 2.4$ Hz, $\text{CH}_{2\text{alquino}}$), 4.14 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, $\text{CH}_{2\text{alil}}$), 2.59 (3H, s, CH_3), 2.41 (1H, t, $J = 2.4$ Hz, $\text{CH}_{\text{alquino}}$) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}$ (237.30 g/mol): C, 80.98; H, 6.37; N, 5.90; O, 6.74



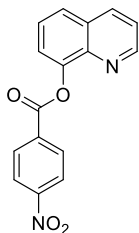
7-Alil-5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVg): A partir de 0.62 g (2.9 mmol) de 7-alil-5-cloro-8-hidroxiquinolina (**IIIc**), 1.36 g (4.9 mmol) de K_2CO_3 , 41 mg (0.2 mmol) de KI y 0.29 g (2.5 mmol) de bromuro de

propargilo se obtuvo 0.57 g (78% rendimiento) del compuesto **IVg**. Aceite amarillo. IR (KBr,

cm⁻¹): 3247, 3100, 2118, 1689, 1272, 1079. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.74 (1H, dd, *J* = 4.2, 1.6 Hz, 2-H_Q), 8.34 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 4-H_Q), 7.42 (1H, dd, *J* = 8.5, 4.2 Hz, 3-H_Q), 7.38 (1H, s, 6-H_Q), 5.83 (1H, ddt, *J* = 17.2, 10.5, 5.2 Hz, 2''-H_a), 5.23-5.27 (2H, m, 3''-H_b y 3''-H_a), 4.83 (2H, d, *J* = 2.4 Hz, CH_{2alquino}), 4.21 (2H, d, *J* = 5.2 Hz, CH_{2alil}), 2.45 (1H, t, *J* = 2.5 Hz, CH_{alquino}) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₅H₁₂ClNO (257.72 g/mol): C, 80.98; H, 6.37; N, 5.90; O, 6.74

2.2.4 Síntesis de derivados de 8-hidroxiquinolina con cloruro de 4-nitrobenzoilo

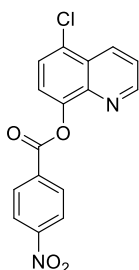
Protocolo general. Se disolvió el derivado de 8-hidroxiquinolina de interés (1 mmol) con carbonato de potasio (3 mmol) y 0.1 mmol de yoduro de potasio en 15 mL de acetona. Se añadió gota a gota cloruro de 4-nitrobenzilo (2 mmol) y se sometió a reflujo durante 12 horas. Una vez se completó la reacción se extrajo el compuesto de interés con diclorometano (3 x 15 mL). El extracto orgánico se recogió sobre sulfato de sodio y el solvente de extracción fue removido mediante rotoevaporación. Los crudos fueron purificados mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo – acetato de etilo (4:1 v/v)



Quinolin-8-il 4-nitrobenzoato (Va): A partir de 0.49 g (3.4 mmol) de 8-hidroxiquinolina (**Ia**), 1.41 g (10.2 mmol) de K₂CO₃, 56 mg (0.3 mmol) de KI y 1.25g (6.7 mmol) de cloruro de 4-nitrobenzoilo se obtuvo 0.67 g (67% rendimiento) del compuesto **Va**. Sólido amarillo, m.p. 102 – 103 °C. **IR** (KBr,

cm⁻¹): 3456, 1592, 1537, 1476, 873. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.87 (1H, dd, *J* = 4.2,

1.7 Hz, 2-H_Q), 8.53 – 8.49 (2H, m, 2-H_{AR}, 6-H_{AR}), 8.39 – 8.35 (2H, m, 3-H_{AR}, 5-H_{AR}), 8.22 (1H, dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 4-H_Q), 7.83 – 7.78 (1H, m, 3-H_Q), 7.63 – 7.58 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_{AR}), 7.45 (1H, dd, $J = 8.3, 4.2$ Hz, 7-H_Q) ppm. *Anal. Calculado para C₁₆H₁₀N₂O₄ (294.27 g/mol):* C, 65.31; H, 3.43; N, 9.52; O, 21.75.



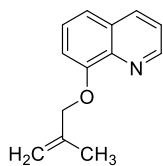
5-Cloroquinolin-8-il 4-nitrobenzoato (Vb): A partir de 0.55 g (3.0 mmol) de 5-cloro-8-hidroxiquinolina (**Ic**), 1.26 g (9.1 mmol) de K₂CO₃, 50 mg (0.3 mmol) de KI y 1.13g (6.1 mmol) de cloruro de 4-nitrobenzoilo se obtuvo 0.72 g (72% rendimiento) del compuesto **Vb**. Sólido amarillo, m.p. 126 – 128 °C. **IR** (KBr,

cm⁻¹): 3394, 2916, 1666. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.91 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2-H_Q), 8.62 (1H, dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 4-H_Q), 8.52 – 8.48 (2H, m, 2-H_{AR}, 6-H_{AR}), 8.41 – 8.38 (2H, m, 3-H_{AR}, 5-H_{AR}), 7.69 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 3-H_Q), 7.58 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 6-H_Q), 7.54 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 7-H_Q) ppm. *Anal. Calculado para C₁₆H₉ClN₂O₄ (328.71 g/mol):* C, 58.46; H, 2.76; Cl, 10.78; N, 8.52; O, 19.47.

2.2.5 Síntesis de derivados de 8-hidroxiquinolina con cloruro de metalilo

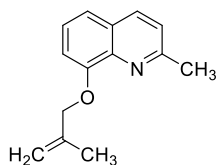
Protocolo general. Se disolvió el derivado de 8-hidroxiquinolina de interés (1 mmol) con carbonato de potasio (3 mmol) en 15 mL de acetona. Se añadió gota a gota cloruro de metalilo (2 mmol) y se sometió a reflujo durante 8 horas. Una vez se completó la reacción se extrajo el compuesto de interés con diclorometano (3 x 15 mL). El extracto orgánico se recogió sobre sulfato de sodio y el disolvente de extracción fue removido mediante

rotoevaporación. Los crudos fueron purificados mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo – acetato de etilo (5:1 v/v).



8-((2-Metilalil)oxi)quinolina (VIa): A partir de 0.73 g (5.0 mmol) de 8-hidroxiquinolina (**Ia**), 2.08 g (15.1 mmol) de K_2CO_3 y 0.90 g (10.0 mmol) de cloruro de metalilo se obtuvo 0.76 g (76% rendimiento) del compuesto **VIa**.

Sólido beige, m.p. 97 – 98 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2962, 1257, 1032. **1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.62 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4- H_Q), 7.65 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4- H_Q), 6.53 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, 6- H_Q), 6.52 (1H, s, 5- H_Q), 6.18 (1H, dd, $J = 5.5, 3.6$ Hz, 3- H_Q), 5.79 (1H, s, 7- H_Q), 4.26 (2H, m, 2'- CH_2), 3.56 (2H, s, 1'- CH_2), 1.34 (3H, s, 2'- CH_3) ppm. *Anal. Calculado para* $C_{13}H_{13}NO$ (199.25 g/mol): C, 78.36; H, 6.58; N, 7.03; O, 8.03.



2-Metil-8-((2-metilalil)oxi)quinolina (VIb): A partir de 0.74 g (4.68 mmol) de 2-metil-8-hidroxiquinolina (**Ib**), 1.94 g (14.1 mmol) de K_2CO_3 y 0.84 g (9.4 mmol) de cloruro de metalilo se obtuvo 0.83 g (83%

rendimiento) del compuesto **VIb**. Aceite amarillo. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3223, 2962, 2929, 2912, 2856, 1663, 1420, 1332, 1191, 751. **1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 7.24 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 4- H_Q), 6.54 – 6.52 (2H, m, 6- H_Q - 5- H_Q), 6.26 (1H, dd, $J = 5.5, 3.5$ Hz, 3- H_Q), 4.30 (1H, s, 7- H_Q), 4.13 (2H, d, $J = 36.4$ Hz, 2'- CH_2), 3.90 (2H, s, 1'- CH_2), 1.87 (3H, s, 2- CH_3), 1.04 (3H, s, 2'- CH_3) ppm. *Anal. Calculado para* $C_{14}H_{15}NO$ (213.28 g/mol): C, 78.84; H, 7.09; N, 6.57; O, 7.50.

2.3 Etapa b. Síntesis de híbridos quinolin-azoles.

En esta etapa se contempló el diseño y síntesis de híbridos conjugados hidroxiquinolinas, tomando como precursores los derivados 8-hidroxiquinolinas *o*-propargiladas (**IVa-g**) preparadas en la etapa anterior, así como las azidas **VIIa-d** y **VIIIa-c** que se describen a continuación para producir los 1,2,3-triazoles generados *in situ* a través de reacción 1,3-dipolar catalizada por cobre.

2.3.1 Síntesis de precursores: organoazidas

Arilazidas derivadas de anilinas, VIIa-d

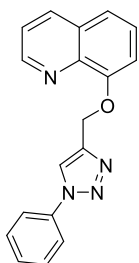
Protocolo general. En un balón se añadió 1 mmol de anilina y 10 mL de agua y se agitó a 0 °C durante 5 min. Se adicionó 5 mL de HCl concentrado gota a gota, la mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente durante 20 min, se agregó 2.5 mmol de NaNO₂ disuelto previamente en 3 mL de agua y la solución resultante se agitó durante 10 min. Se adicionó 2.5 mmol de NaN₃ disuelta en 2 mL de agua gota a gota y la mezcla se agitó durante 3 h. Una vez se completó la reacción se extrajo el compuesto de interés con diclorometano (3 x 15 mL). El extracto orgánico se recogió sobre sulfato de sodio y el solvente de extracción fue removido mediante rotoevaporación. Las diferentes azidas fueron obtenidas, almacenadas a 4 °C protegidas de la luz y posteriormente empleadas sin purificación.

Bencilazidas derivadas de bromuro de bencilo, VIIIa-c

Protocolo general. Se añadió el derivado de bromuro de bencilo (1 mmol) a una solución de azida de sodio (2 mmol) en 20 mL de DMF anhidro. La mezcla fue agitada toda la noche a 80°C. La reacción fue detenida mediante la adición de agua y extraída con acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase orgánica fue lavada con solución salina acuosa (3 x 50 mL) y secadas sobre Na₂SO₄. La fase orgánica fue filtrada, el disolvente fue retirado bajo presión y las diferentes azidas fueron obtenidas, almacenadas a 4 °C protegidas de la luz y posteriormente empleadas sin purificación.

2.3.2 Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas conjugados del Grupo A

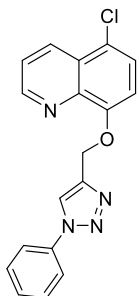
Protocolo general: Se disolvieron los derivados de arilazida **VIIa-d** (1.3 mmol) y derivados de 8-hidroxiquinolinas propargiladas **IVa-g** (1 mmol) en una mezcla *tert*-butanol: agua (1:2 v/v). Se añadió a esta solución CuSO₄·5H₂O (0.05 mmol) y ascorbato de sodio (0.40 mmol) y se mantuvo en agitación durante toda la noche a temperatura ambiente. Se le adicionó solución salina acuosa y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y secada sobre Na₂SO₄. El crudo fue purificado mediante cromatografía en columna de sílice empleando como mezcla eluyente diclorometano-metanol 9:1 (v/v)



8-((1-phenyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)quinoline (1): A partir de 0.25 g (1.4 mmol) de **IVa**, 0.21 g (1.8 mmol) de arilazida **VIIa**, 17 mg (0.07 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 108 mg (0.54 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.36 g del producto **1** como un sólido blanco, con un rendimiento del 87%; m.p. 102 -103

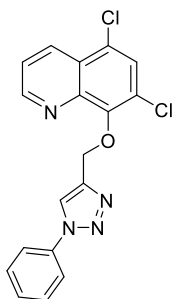
°C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 2340, 1534, 1423, 1095, 745. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.95 (1H,

dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2-H_Q), 8.76 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.63 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4-H_Q), 7.96 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.71 – 7.61 (4H, m, 5-H_Q, 8'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 6-H_Q), 7.49 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 3-H_Q), 7.39 (1H, m, 8'-H_{Ar}), 7.32 (1H, td, $J = 7.7, 1.6$, 7-H_Q), 5.47 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₈H₁₄N₄O (302.34 g/mol): C, 71.51; H, 4.67; N, 18.53; O, 5.29.



5-Cloro-8-((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (2): A partir de 0.25 g (1.2 mmol) de **IVc**, 0.21 g (1.8 mmol) de arilazida **VIIa**, 17 mg (0.07 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 108 mg (0.54 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.30 g del producto **2** como un sólido blanco, con un rendimiento del 66%; m.p. 115 - 117 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3069, 2360, 1381, 1284. **¹H RMN** (400 MHz,

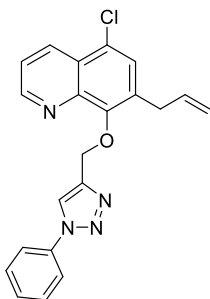
DMSO), δ : 9.05 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.90 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, 2-H_Q), 8.53 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 4-H_Q), 7.93 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.69 - 7.63 (3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 7.66 (2H, m, 3-H_Q, 6-H_Q), 7.43 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 7-H_Q), 5.31 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₈H₁₃ClN₄O (350.81 g/mol): C, 64.20; H, 3.89; Cl, 10.53; N, 16.64; O, 4.75.



5,7-Dicloro-8-((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (3): A partir de 0.30 g (1.2 mmol) de **IVd**, 0.18 g (1.5 mmol) de arilazida **VIIa**, 15 mg (0.06 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 94 mg (0.48 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.40 g del producto **3** como un sólido beige, con un rendimiento del 92%; m.p. 107 -109 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3071, 2121, 1466, 1378, 1095.

¹H RMN (400 MHz, DMSO), δ : 8.72 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2-H_Q), 8.65 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4-H_Q), 8.05 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.82 (1H, s, 6-H_Q), 7.73 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3-H_Q), 7.47 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, 6'-H_{Ar} - 10'-H_{Ar}), 7.39 – 7.28 (3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 5.37

(2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para C₁₈H₁₂Cl₂N₄O* (371.22 g/mol): C, 58.24; H, 3.26; Cl, 19.10; N, 15.09; O, 4.31.



7-Alil-5-cloro-8-((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (4): A

partir de 0.30 g (1.2 mmol) de **IVg**, 0.18 g (1.5 mmol) de arilazida **VIIa**,

15 mg (0.06 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 92 mg (0.46 mmol) de ascorbato de

sodio, se obtuvo 0.29 g del producto **4** como un sólido beige, con un

rendimiento del 68%; m.p. 144 -146 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3097, 2105,

1587, 1390, 1092. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ: 8.57 (1H, dd, *J* = 4.2, 1.7 Hz, 2-H_Q), 8.23

(1H, dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 4-H_Q), 7.28 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.08 (1H, dd, *J* = 8.6, 4.2 Hz, 3-H_Q),

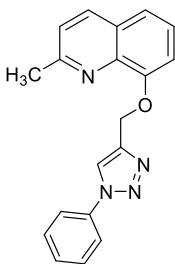
7.03 (1H, s, 6-H_Q), 6.95 (2H, m, 6'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 6.85 – 6.79 (2H, m, 9'-H_{Ar}, 7'-H_{Ar}), 6.75

(1H td, *J* = 7.5, 1.4 Hz, 8'-H_{Ar}), 6.10 (1H, ddt, *J* = 16.5, 10.0, 6.5, 2''-H_{alil}), 5.25 – 5.17 (2H,

m, 3''-H_b, 3''-H_a), 5.25 (2H, s, 1'-CH₂), 5.02 (2H, s, 3''-CH₂), 3.62 (2H, d, *J* = 6.5 Hz, 1''-

CH_{2alil}) ppm. *Anal. Calculado para C₂₁H₁₇ClN₄O* (376.84 g/mol): C, 66.93; H, 4.55; Cl, 9.41;

N, 14.87; O, 4.25.



8-((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (5): A partir de

0.25 g (1.26 mmol) de **IVb**, 0.20 g (1.64 mmol) de arilazida **VIIa**, 16 mg

(0.06 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 100 mg (0.51 mmol) de ascorbato de sodio,

se obtuvo 0.32 g del producto **5** como un sólido blanco, con un rendimiento

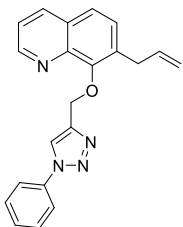
del 80%; m.p. 120 -122 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3103, 2095, 1381, 1089, 731. **¹H RMN** (400

MHz, DMSO), δ: 8.33 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.15 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, 4-H_Q), 7.43 (1H, dd, *J* = 8.4,

1,1 Hz, 3-H_Q), 7.45 (1H, d, 7.5 Hz, 6-H_Q), 7.38 – 7.33 (2H, m, 6'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 7.49 – 7.43

(3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 5.66 (2H, s, 1'-CH₂), 2.59 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal.*

Calculado para C₁₉H₁₆N₄O (316.36 g/mol): C, 72.13; H, 5.10; N, 17.71; O, 5.06.



7-Alil-8-((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (6): A partir de

0.29 g (1.3 mmol) de **IVe**, 0.20 g (1.7 mmol) de arilazida **VIIa**, 16 mg (0.06

mmol) de CuSO₄·5H₂O y 103 mg (0.52 mmol) de ascorbato de sodio, se

obtuvo 0.38 g del producto **6** como un sólido amarillento, con un rendimiento

del 86%; m.p. 92 - 93 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3087, 2123, 1612, 1257, 1075. **¹H RMN** (400

MHz, DMSO), δ: 8.92 (1H, d, *J* = 3.0, 2-H_Q), 8.49 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz, 4-H_Q), 8.33 (1H,

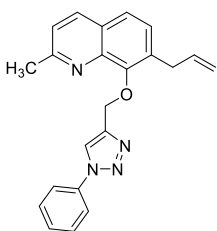
s, 3'-H_{TA}), 7.87 (2H, dd, *J* = 7.5, 1.4, 6'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 7.53 - 7.47 (3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-

H_{Ar}), 7.40 (1H, m, 3-H_Q), 7.36 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.4 Hz, 5-H_Q), 6.18 (1H, ddt, *J* = 17.3, 10.6,

5.5 Hz, 2''-H_a), 5.45 (1H, ddd, *J* = 17.3, 3.0, 1.5, 3''-H_b), 5.34 (1H, ddd, *J* = 10.5, 2.6, 1.3,

3''-H_a), 4.86 (2H, dt, *J* = 5.5, 1.3 Hz, 1'-CH₂), 3.65 (2H, d, *J* = 6.5 Hz, 1''-CH_{2alil}) ppm. *Anal.*

Calculado para C₂₁H₁₈N₄O (356.43 g/mol): C, 73.67; H, 5.30; N, 16.36; O, 4.67



7-Alil-8-((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (7):

A partir de 0.25 g (1.0 mmol) de **IVf**, 0.16 g (1.3 mmol) de arilazida **VIIa**,

13 mg (0.05 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 83 mg (0.42 mmol) de ascorbato

de sodio, se obtuvo 0.35 g del producto **7** como un sólido blanco, con un

rendimiento del 94%; m.p. 135 - 136 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3095, 2125, 1613, 1363, 1087. **¹H**

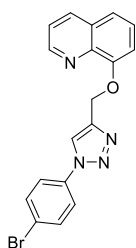
RMN (400 MHz, DMSO), δ: 9.05 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.19 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz, 4-H_Q), 7.83

(2H, dd, *J* = 7.5, 1.4, 6'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 7.51 - 7.45 (3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 7.46 (1H,

dd, *J* = 8.0, 1.3, 3-H_Q), 7.38 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_Q), 6.23 (1H, ddt, *J* = 17.5, 10.4, 5.5 Hz, 2''-

H_a), 5.42 (1H, ddd, *J* = 17.5, 3.0, 1.5, 3''-H_b), 5.33 (1H, ddd, *J* = 10.4, 3.0, 1.5, 3''H_a), 4.81

(2H, dt, $J = 5.5, 1.5$ Hz, 1'-CH₂), 3.72 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''-CH₂alil), 2.61 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para C₂₂H₂₀N₄O* (353.43 g/mol): C, 74.14; H, 5.66; N, 15.72; O, 4.49.

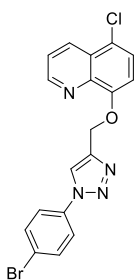


8-((1-(4-Bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (8): A partir de

0.20 g (1.1 mmol) de **IVa**, 0.28 g (1.4 mmol) de arilazida **VIIIb**, 14 mg (0.05 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 86 mg (0.44 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo

0.34 g del producto **8** como un sólido blanco, con un rendimiento del 82%; m.p.

89 – 90 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3100, 2098, 1595, 1472, 1384, 1095, 743. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.92 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2-H_Q), 8.74 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.67 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 4-H_Q), 7.89 (2H, m, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.74 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.53 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_Q), 7.46 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 3-H_Q), 7.37 (1H, td, $J = 7.6, 1.5$, 7-H_Q), 5.45 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para C₁₈H₁₃BrN₄O* (381.23 g/mol): C, 56.71; H, 3.44; Br, 20.696, N, 14.70; O, 4.20.

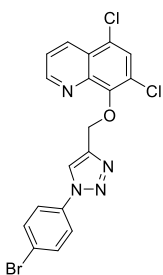


8-((1-(4-Bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-5-cloroquinolina (9): A

partir de 0.18 g (0.8 mmol) de **IVc**, 0.21 g (1.1 mmol) de arilazida **VIIIb**, 10 mg (0.041 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 65 mg (0.33 mmol) de ascorbato de sodio, se

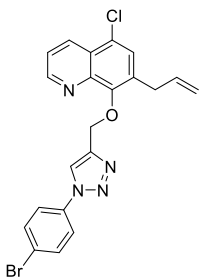
obtuvo 0.30 g del producto **9** como un sólido beige, con un rendimiento del 90%;

m.p. 94 - 95 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3112, 2135, 1584, 1403, 1340, 1084. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.06 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.94 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, 2-H_Q), 8.45 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 4-H_Q), 7.93 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.68 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.68 (2H, m, 3-H_Q, 6-H_Q), 7.42 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 7-H_Q), 5.39 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para C₁₈H₁₂BrClN₄O* (415.68 g/mol): C, 52.01; H, 2.91; Br, 19.22; Cl, 8.53; N, 13.48; O, 3.85.



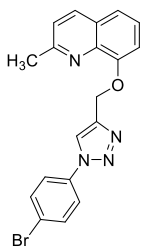
8-((1-(4-Bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-5,7-dicloroquinolina

(10): A partir de 0.25 g (1.0 mmol) de **IVd**, 0.19 g (1.3 mmol) de arilazida **VIIb**, 12 mg (0.05 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 79 mg (0.40 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.38 g del producto **10** como un sólido blanco, con un rendimiento del 85%; m.p. 128 -129 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2234, 1584, 1367, 1099. **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, DMSO) δ : 9, 04 (1H, s, 3'- H_{TA}), 8.95 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2- H_Q), 8.56 (1H, dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 4- H_Q), 7.78 (1H, s, 6- H_Q), 7.76 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.44 (2H, d, $J = 5.1$ Hz, 6'- H_{Ar} -10'- H_{Ar}), 7.41 – 7.37 (2H, m, 7'- H_{Ar} -9'- H_{Ar}), 5.44 (2H, s, 1'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{BrCl}_2\text{N}_4\text{O}$ (450,12 g/mol):* C, 48.03; H, 2.46; Br, 17.75; Cl, 15.75; N, 12.45; O, 3.55.



7-Alil-8-((1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-5-cloroquinolina

(11): A partir de 0.26 g (1.0 mmol) de **IVg**, 0.26 g (1.3 mmol) de arilazida **VIIb**, 12 mg (0.05 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 79 mg (0.40 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.40 g del producto **11** como un sólido amarillo claro, con un rendimiento del 89%; m.p. 147 - 148 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3095, 1591, 1384, 1105. **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, DMSO), δ : 8.47 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.05 (1H, dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 4- H_Q), 7.29 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.06 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.05 (1H, s, 6- H_Q), 6.94 (2H, m, 6'- H_{Ar} , 10'- H_{Ar}), 6.87 (2H, m, 7'- H_{Ar} , 9'- H_{Ar}), 6.79 (1H td, $J = 7.5, 1.4$ Hz, 8'- H_{Ar}), 6.18 (1H, ddt, $J = 16.5, 10.0, 6.5$, 2'' H_{alil}), 5.23 (2H, m, 3''- H_b , 3''- H_a), 5.17 (2H, s, 1'- CH_2), 5.04 (2H, s, 3''- CH_2), 3.66 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''- $\text{CH}_{2\text{alil}}$) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{BrClN}_4\text{O}$ (455,74 g/mol):* C, 55.35; H, 3.54; Br, 17.53; Cl, 7.78; N, 12.29; O, 3.51.



8-((1-(4-Bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-7-metilquinolina (12): A

partir de 0.25 g (0.6 mmol) de **IVb**, 0.16 g (0.8 mmol) de arilazida **VIIb**, 8 mg

(0.03 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 50 mg (0.25 mmol) de ascorbato de sodio, se

obtuvo 0.20 g del producto **12** como un sólido blanco, con un rendimiento del

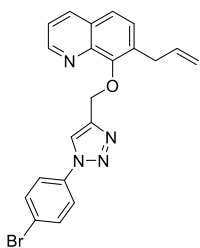
80%; m.p. 135 - 136 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3156, 1574, 1231, 1343, 1095. **^1H RMN** (400 MHz,

DMSO), δ : 8.32 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.18 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4-H_Q), 7.69 (2H, m, 6'-H_{Ar}, 10'-

H_{Ar}), 7.43 (1H, dd, $J = 8.5, 1.1$ Hz, 3-H_Q), 7.45 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, 6-H_Q), 7.43 (3H, m, 7'-

H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 5.62 (2H, s, 1'-CH₂), 2.61 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para*

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}$ (395,26 g/mol): C, 57.74; H, 3.83; Br, 20.22; N, 14.17; O, 4.05.



7-Alil-8-((1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina

(13): A partir de 0.25 g (1.1 mmol) de **IVe**, 0.28 g (1.4 mmol) de arilazida

VIIb, 14 mg (0.05 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 89 mg (0.45 mmol) de

ascorbato de sodio, se obtuvo 0.35 g del producto **13** como un sólido

blanco, con un rendimiento del 76%; m.p. 114 - 115 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3163, 2898, 1457,

1226, 1187. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.06 (1H, s, 3'-H_{TA}), δ 8.92 (1H, d, $J = 3.0, 2-$

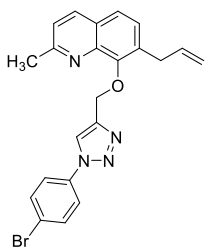
H_Q), 8.38 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4-H_Q), 7.83 (2H, dd, $J = 7.5, 1.4$, 6'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 7.64

(3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 7.42 (1H, m, 3-H_Q), 7.34 (1H, dd, $J = 8.5, 1.4$ Hz, 5-H_Q), 6.10

(1H, ddt, $J = 16.6, 10.2, 5.6$ Hz, 2''-H_a), 5.38 (2H, m, 3''-H_b, 3''-H_a), 4.86 (2H, dt, $J = 5.6,$

1.3 Hz, 1'-CH₂), 3.63 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''-CH_{2(ali)}) ppm. *Anal. Calculado para*

$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{BrN}_4\text{O}$ (421,30 g/mol): C, 59.87; H, 4.07; Br, 18.97; N, 13.30; O, 3.80.



7-Alil-8-((1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metil-

quinolina (14): A partir de 0.21 g (0.9 mmol) de **IVf**, 0.23 g (1.2 mmol) de arilazida **VIIIb**, 11 mg (0.04 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 70 mg (0.35 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.33 g del producto **14** como un

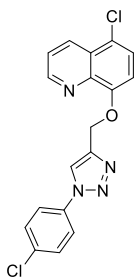
sólido blanco, con un rendimiento del 87%; m.p. 153 - 154 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3077, 2069, 1535, 1458, 1221, 1165. **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, DMSO), δ : 9.05 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.19 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4-H_Q), 7.83 (2H, dd, $J = 7.5, 1.4$, 6'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 7.51 - 7.45 (3H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 7.46 (1H, dd, $J = 8.0, 1.3$, 3-H_Q), 7.38 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_Q), 5.95 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.5, 5.2$ Hz, 2''-H_a), 5.35 (1H, dq, $J = 17.2, 1.6$ Hz, 3''-H_b), 5.10 (1H, dd, $J = 10.5, 1.6$ Hz, 3''-H_a), 4.85 (2H, dt, $J = 5.5, 1.5$ Hz, 1'-CH₂), 3.69 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''-CH₂), 2.69 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{BrN}_4\text{O}$ (435.32 g/mol): C, 60.70; H, 4.40; Br, 18.36; N, 12.87; O, 3.68.



8-((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (15): A partir de

0.23 g (1.3 mmol) de **IVa**, 0.25 g (1.6 mmol) de arilazida **VIIIc**, 16 mg (0.06 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 98 mg (0.50 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.38 g del producto **15** como un sólido blanco, con un rendimiento del 91%; m.p.

104 - 105 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3138, 2095, 1323, 1095. **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, DMSO), δ : 9.04 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.97 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, 2-H_Q), 8.46 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4-H_Q), 7.93 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.73 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.53 (2H, m, 6-H_Q, 3-H_Q), 7.42 (1H, d, $J = 8.4$, 7-H_Q), 5.45 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}$ (336.78 g/mol): C, 64.20; H, 3.89; Cl, 10.53; N, 16.64; O, 4.75.



5-Cloro-8-((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (16): A

partir de 0.19 g (0.9 mmol) de **IVc**, 0.17 g (1.2 mmol) de arilazida **VIIc**, 11 mg

(0.043 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 69 mg (0.35 mmol) de ascorbato de sodio, se

obtuvo 0.28 g del producto **16** como un sólido blanco, con un rendimiento del

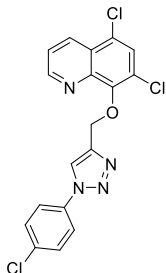
87%; m.p. 110 - 111 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2218, 1603, 1115, 753. **^1H RMN** (400 MHz,

DMSO) δ : 9.04 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.92 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, 2-H_Q), 8.48 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 4-

H_Q), 7.96 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.70 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.66 (2H, m, 3-

H_Q, 6-H_Q), 7.45 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 7-H_Q), 5.45 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para*

$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ (371,22 g/mol): C, 58.24; H, 3.26; Cl, 19.10; N, 15.09; O, 4.31.



5,7-Dicloro-8-((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina

(17): A partir de 0.20 g (0.8 mmol) de **IVd**, 0.16 g (1.0 mmol) de arilazida

VIIc, 10 mg (0.04 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 63 mg (0.32 mmol) de ascorbato

de sodio, se obtuvo 0.29 g del producto **17** como un sólido beige, con un

rendimiento del 92%; m.p. 134 - 135 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2088, 1489, 1341, 1087. **^1H RMN**

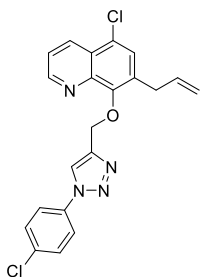
(400 MHz, DMSO), δ : 9.03 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2-H_Q), 8.62 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4-

H_Q), 8.15 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.90 (1H, s, 6-H_Q), 7.75 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3-H_Q), 7.70 (2H,

dd, $J = 7.8, 3.6$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.66 (2H d, $J = 8.6$ Hz, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 5.45 (2H, s, 1'-

CH₂) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}$ (405,66 g/mol): C, 53.29; H, 2.73; Cl, 26.22;

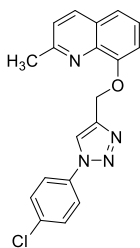
N, 13.81; O, 3.94.



7-Alil-5-cloro-8-((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)

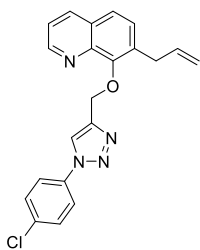
quinolina (18): A partir de 0.24 g (0.9 mmol) de **IVg**, 0.18 g (1.2 mmol) de arilazida **VIIc**, 12 mg (0.046 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 74 mg (0.37 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.31 g del producto **18** como un

sólido beige, con un rendimiento del 81%; m.p. 146 - 147 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3173, 1422, 1304, 1106. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.04 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.92 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2-H_Q), 8.62 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4-H_Q), 7.75 (1H, dd, $J = 8.5, 4.1$ Hz, 3-H_Q), 7.70 (2H, dd, $J = 7.8, 3.6$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.66 (2H d, $J = 8.6$ Hz, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.34 (1H, s, 6-H_Q), 6.10 (1H, m, 2''-H_a), 5.25 - 5.18 (2H, m, 3''-H_b, 3''-H_a), 5.15 (2H, s, 1'-CH₂), 3.63 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, CH_{2alil}) ppm. *Anal. Calculado para* C₂₁H₁₆Cl₂N₄O (411,29 g/mol): C, 61.33; H, 3.92; Cl, 17.24; N, 13.62; O, 3.89.



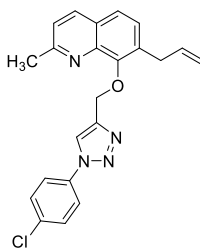
8-((1-(4-Clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (19): A partir de 0.2 g (1.0 mmol) de **IVb**, 0.20 g (1.3 mmol) de arilazida **VIIc**, 12 mg (0.05 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 80 mg (0.40 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.23 g del producto **19** como un sólido blanco, con un rendimiento del

83%; m.p. 89 - 90 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2456, 2088, 1065, 753. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.06 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.18 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4-H_Q), 7.97 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.69 - 7.66 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.49 - 7.43 (m, 2H, 5-H_Q, 6-H_Q), 7.42 - 7.39 (2H, m, 7-H_Q, 3-H_Q), 5.44 (2H, s, 1'-CH₂), 2.62 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para* C₁₉H₁₅ClN₄O (395,26 g/mol): C, 57.74; H, 3.83; Br, 20.22; N, 14.17; O, 4.05.

**7-Alil-8-((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (20):**

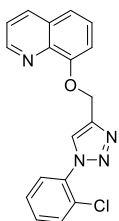
A partir de 0.21 g (0.9 mmol) de **IVe**, 0.19 g (1.2 mmol) de arilazida **VIIc**, 12 mg (0.047 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 75 mg (0.38 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.30 g del producto **20** como un sólido beige, con un

rendimiento del 86%; m.p. 162 - 163 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3100, 2098, 1595, 1472, 1384, 1095, 743. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO) δ : 9.04 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.75 (1H, dd, $J = 4.3, 1.5$ Hz, 2-H_Q), 8.15 (1H, dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, 4-H_Q), 7.50 - 7.46 (2H, m, 6-H_Q, 3-H_Q), 7.30 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 5-H_Q), 6.10 (1H, ddt, $J = 16.5, 10.0, 6.3$ Hz, 2''-H_a), 5.44 (2H, s, 1'-CH₂), 5.17 (2H, m, 3''-H_b, 3''-H_a), 3.66 (2H, d, $J = 6.3$ Hz, CH_{2alil}) ppm. *Anal. Calculado para* C₂₁H₁₇ClN₄O (376,84g/mol): C, 66.93; H, 4.55; Cl, 9.41; N, 14.87; O, 4.25.

**7-Alil-8-((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metil**

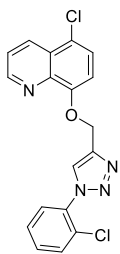
quinolina (21): A partir de 0.21 g (0.8 mmol) de **IVf**, 0.15 g (1.0 mmol) de arilazida **VIIc**, 9 mg (0.038 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 60 mg (0.30 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.26 g del producto **21** como un

sólido blanco, con un rendimiento del 89%; m.p. 175 - 176 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3147, 2167, 1448, 1329, 1275. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.92 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.97 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4-H_Q), 7.92 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, 10'-H_{Ar}, 6'-H_{Ar}), 7.69 - 7.66 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.25 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, 3-H_Q), 7.15 - 7.11 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_Q), 5.97 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.5, 5.2$ Hz, 2''-H_a), 5.32 (1H, dq, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 3''-H_b), 5.12 (1H, dd, $J = 10.5, 1.6$ Hz, 3''-H_a), 4.32 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, 1'-CH₂), 3.59 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, CH_{2alil}), 2.59 (3H, s, CH₃) ppm. *Anal. Calculado para* C₂₂H₁₉ClN₄O (390,87 g/mol): C, 65.05; H, 4.31; Cl, 10.11; N, 15.97; O, 4.56.

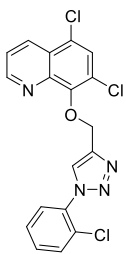


8-((1-(2-Clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (22): A partir de 0.16 g (0.9 mmol) de **IVa**, 0.17 g (1.1 mmol) de arilazida **VIIId**, 11 mg (0.04 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 69 mg (0.35 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.29 g del producto **22** como un sólido blanco, con un rendimiento del 85%; m.p. 87 - 88 °C.

IR (KBr, cm^{-1}): 3133, 2076, 1532, 1416, 1319. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.93 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2- H_Q), 8.75 (1H, s, 3'- H_TA), 8.47 (1H, dd, $J = 4.1, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.06 (1H, dd, $J = 8.3, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 7.79 (1H, dd, $J = 7.9, 1.4$ Hz, 9'- H_Ar), 7.76 - 7.72 (1H, m, 6'- H_Ar), 7.66 (1H, td, $J = 7.7, 1.9$ Hz, 8'- H_Ar), 7.59 (1H, td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 7'- H_Ar), 7.49 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 7.21 - 7.19 (2H, m, 6- H_Q , 3- H_Q), 7.17 (1H, dd, $J = 8.5, 4.2$ Hz, 5- H_Q), 5.48 (2H, s, 1'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}$ (336,78 g/mol): C, 64.20; H, 3.89; Cl, 10.53; N, 16.64; O, 4.75.

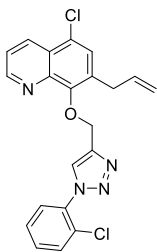


5-Cloro-8-((1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (23): A partir de 0.20 g (0.9 mmol) de **IVc**, 0.18 g (1.2 mmol) de arilazida **VIIId**, 11 mg (0.046 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 73 mg (0.37 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.33 g del producto **23** como un sólido blanco, con un rendimiento del 92%; m.p. 106 - 107 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 2246, 1442, 1266, 1095, 732. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.95 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2- H_Q), 8.79 (1H, s, 3'- H_TA), 8.53 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 7.79 (1H, dd, $J = 7.9, 1.4$ Hz, 9'- H_Ar), 7.76 - 7.72 (3H, m, 3- H_Q , 6- H_Q , 6'- H_Ar), 7.66 (1H, td, $J = 7.7, 1.9$ Hz, 8'- H_Ar), 7.60 (1H, td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 7'- H_Ar), 7.49 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 5.48 (2H, s, 1'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ (371,22 g/mol): C, 58.24; H, 3.26; Cl, 19.10; N, 15.09; O, 4.31.

**5,7-Dicloro-8-((1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (24):**

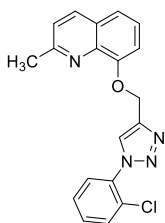
A partir de 0.22 g (0.8 mmol) de **IVd**, 0.16 g (1.0 mmol) de arilazida **VIId**, 10 mg (0.04 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 63 mg (0.32 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.27 g del producto **24** como un sólido blanco, con un rendimiento del

86%; m.p. 163 - 164 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3019, 2254, 1427, 1354. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.75 (1H, dd, $J = 4.5, 1.7$ Hz, 2-H_Q), 8.63 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4-H_Q), 8.02 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.81 (1H, s, 6-H_Q), 7.69 (1H, m, 4.2 Hz, 3-H_Q), 7.53 (2H, m, 6'-H_{Ar}-9'-H_{Ar}), 7.39 - 7.32 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 5.32 (2H, s, 1'-CH₂) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}$ (405,66 g/mol): C, 53.29; H, 2.73; Cl, 26.22; N, 13.81; O, 3.94.

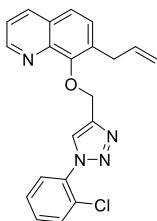
**7-Alil-5-cloro-8-((1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina**

(25): A partir de 0.22 g (0.9 mmol) de **IVg**, 0.17 g (1.1 mmol) de arilazida **VIId**, 11 mg (0.043 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 68 mg (0.34 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.29 g del producto **25** como un sólido beige, con un

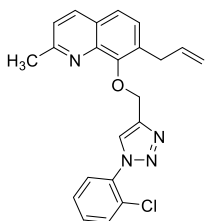
rendimiento del 82%; m.p. 132 - 133 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3097, 2105, 1587, 1390, 1092. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.53 (1H, dd, $J = 4.3, 1.7$ Hz, 2-H_Q), 8.25 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4-H_Q), 7.33 (1H, s, 3'-HTA), 7.02 (1H, dd, $J = 8.5, 4.1$ Hz, 3-H_Q), 7.08 (1H, s, 6-H_Q), 6.95 (2H, m, 6'-H_{Ar}, 7'-H_{Ar}), 6.82 (2H, m, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 6.13 (1H, m, 2''-H_{alil}), 5.21 (2H, m, 3''-H_b, 3''-H_a), 5.19 (2H, s, 1'-CH₂), 5.06 (2H, s, 3''-CH₂), 3.57 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''-CH_{2alil}) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ (411,29 g/mol): C, 61.33; H, 3.92; Cl, 17.24; N, 13.62; O, 3.89.

**8-((1-(2-Clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (26):**

A partir de 0.19 g (1.0 mmol) de **IVb**, 0.19 g (1.3 mmol) de arilazida **VIIId**, 12 mg (0.05 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 76 mg (0.38 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.29 g del producto **26** como un sólido blanco, con un rendimiento del 85%; m.p. 104 - 105 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3164, 2106, 1341, 1069. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.31 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.04 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 4-H_Q), 7.45 (1H, dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 3-H_Q), 7.38 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, 6-H_Q), 7.38 - 7.33 (2H, m, 6'-H_{Ar}, 7'-H_{Ar}), 7.45 (2H, m, 9'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 5.61 (2H, s, 1'-CH₂), 2.63 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}$ (395,26 g/mol): C, 65.05; H, 4.31; Cl, 10.11; N, 15.97; O, 4.56.

**7-Alil-8-((1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (27):**

A partir de 0.22 g (0.98 mmol) de **IVe**, 0.20 g (1.28 mmol) de arilazida **VIIId**, 12 mg (0.049 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 78 mg (0.39 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.31 g del producto **27** como un sólido blanco, con un rendimiento del 83%; m.p. 145 - 146 °C. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.04 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.95 (1H, d, $J = 3.0$, 2-H_Q), 8.53 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4-H_Q), 7.87 (2H, dd, $J = 7.5, 1.7$, 6'-H_{Ar}, 7'-H_{Ar}), 7.51 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.39 (1H, m, 3-H_Q), 7.31 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 5-H_Q), 6.03 (1H, ddt, $J = 17.3, 10.6, 5.5$ Hz, 2''-H_a), 5.45 (1H, ddd, $J = 17.3, 3.0, 1.5$, 3''-H_b), 5.34 (1H, ddd, $J = 10.6, 3.0, 1.5$, 3''-H_a), 4.86 (2H, dt, $J = 5.5, 1.3$ Hz, 1'-CH₂), 3.62 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''-CH₂_{alil}) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}$ (376,84g/mol): C, 66.93; H, 4.55; Cl, 9.41; N, 14.87; O, 4.25.



7-Alil-8-((1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metil

quinolina (28): A partir de 0.17 g (0.7 mmol) de **IVf**, 0.14 g (0.9 mmol)

de arilazida **VIII d**, 9 mg (0.036 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 57 mg (0.29

mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.25 g del producto **28** como un sólido blanco, con

un rendimiento del 90%; m.p. 126 - 127 °C. $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO), δ : 9.02 (1H, s, 3'-

H_{TA}), 8.18 (1H, dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 4- H_Q), 7.95 (2H, dd, $J = 7.5, 1.5$, 6'- H_{Ar} , 7'- H_{Ar}), 7.48

(2H, m, 9'- H_{Ar} , 8'- H_{Ar}), 7.46 (1H, m, 3- H_Q), 7.35 (2H, m, 5- H_Q , 6- H_Q), 6.13 (1H, m, 2''- H_a),

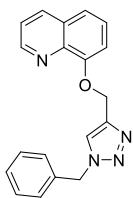
5.42 (1H, ddd, $J = 17.5, 3.0, 1.5$, 3''- H_b), 5.37 (1H, m, 3''- H_a), 4.84 (2H, dt, $J = 5.5, 1.6$ Hz,

1'- CH_2), 3.67 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''- $\text{CH}_{2\text{alil}}$), 2.67 (3H, s, 2- CH_3) ppm. *Anal. Calculado para*

$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}$ (390,87 g/mol): C, 65.05; H, 4.31; Cl, 10.11; N, 15.97; O, 4.56.

2.3.3 Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas conjugados Grupo B

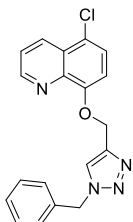
Protocolo general. Se disolvieron los derivados de bencilazida **VIIIa-c** (1.3 mmol) y derivados de 8-hidroxiquinolinas propargiladas **IVa-g** (1.0 mmol) en una mezcla *tert*-butanol: agua (1:2 v/v). Se añadió a esta solución $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.05 mmol) y ascorbato de sodio (0.40 mmol) y se mantuvo en agitación durante toda la noche a temperatura ambiente. Se le adicionó solución salina acuosa y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y secada sobre Na_2SO_4 . El crudo fue purificado mediante cromatografía en columna de sílica empleando como mezcla eluyente diclorometano-metanol 9:1 (v/v).



8-((1-Bencil-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metoxi)quinolina (29): A partir de 0.20 g (1.1 mmol) de **IVa**, 0.19 g (1.4 mmol) de bencilazida **VIIIa**, 14 mg (0.055 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 87 mg (0.44 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo

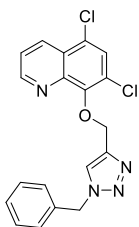
0.31 g del producto **29** como un sólido blanco, con un rendimiento del 90%; m.p. 87 – 88 °C.

IR (KBr, cm^{-1}): 3463, 3087, 2879, 1575, 1483. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.95 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, 2- H_Q), 8.42 (1H, dd, $J = 8.6, 1.5$ Hz, 4- H_Q), 8.35 (1H, s, 3'- H_TA), 7.73 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 3- H_Q), 7.66 (d, $J = 8.5$ Hz, 6- H_Q), 7.41 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 7- H_Q), 7.37 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, 8'- H_Ar - 10'- H_Ar), 7.38 – 7.32 (4H, m, 5- H_Q , 7'- H_Ar - 9'- H_Ar - 11'- H_Ar), 5.59 (2H, s, 1'- CH_2), 5.35 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ (316,36 g/mol): C, 72.13; H, 5.10; N, 17.71; O, 5.06.



8-((1-Bencil-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metoxi)-5-cloroquinolina (30): A partir de 0.25 g (1.2 mmol) de **IVc**, 0.20 g (1.5 mmol) de bencilazida **VIIIa**, 14 mg (0.06 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 91 mg (0.46 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.34 g del producto **30** como un sólido blanco, con un rendimiento del 85%; m.p.

107 - 108 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3543, 2268, 1587, 1443, 1314. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.92 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, 2- H_Q), 8.49 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 8.33 (1H, s, 3'- H_TA), 7.70 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 3- H_Q), 7.69 (d, $J = 8.4$ Hz, 6- H_Q), 7.40 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 7.37 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, 8'- H_Ar - 10'- H_Ar), 7.35 – 7.31 (3H, m, 7'- H_Ar - 9'- H_Ar - 11'- H_Ar), 5.63 (2H, s, 1'- CH_2), 5.37 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}$ (350.81 g/mol): C, 65.05; H, 4.31; Cl, 10.11; N, 15.97; O, 4.56.



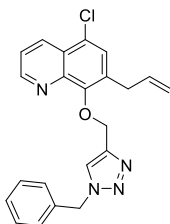
8-((1-Bencil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-5,7-dicloroquinolina (31): A

partir de 0.32 g (1.3 mmol) de **IVd**, 0.22 g (1.7 mmol) de bencilazida **VIIIa**, 17

mg (0.08 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 103 mg (0.52 mmol) de ascorbato de sodio,

se obtuvo 0.37 g del producto como un sólido beige, con un rendimiento del

75%; m.p. 146 - 147 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3124, 2108, 1515, 1321, 1084. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.05 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.55 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 8.07 (1H, s, 3'- H_TA), 7.90 (1H, s, 6- H_Q), 7.75 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.56 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, 8'- H_Ar - 10'- H_Ar), 7.41 - 7.37 (3H, m, 7'- H_Ar - 9'- H_Ar - 11'- H_Ar), 5.47 (2H, s, 1'- CH_2), 5.26 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ (385.25 g/mol):* C, 59.24; H, 3.66; Cl, 18.40; N, 14.54; O, 4.15.



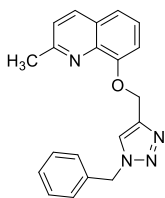
7-Alil-8-((1-bencil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-5-cloroquinolina (32): A

partir de 0.30 g (1.16 mmol) de **IVg**, 0.20 g (1.51 mmol) de bencilazida

VIIIa, 15 mg (0.06 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 92 mg (0.46 mmol) de ascorbato

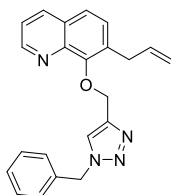
de sodio, se obtuvo 0.27 g del producto como un sólido beige, con un

rendimiento del 62%; m.p. 101 - 102 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3089, 2935, 1576, 798. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.07 (1H, s, 3'- H_TA), 8.75 (1H, dd, $J = 4.2, 1.5$ Hz, 2- H_Q), 8.59 (1H, dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 4- H_Q), 7.85 (1H, s, 6- H_Q), 7.75 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.52 (2H, m, 8'- H_Ar - 10'- H_Ar), 7.39 (3H, m, 7'- H_Ar - 9'- H_Ar - 11'- H_Ar), 6.13 (1H, ddt, $J = 16.5, 10.0, 5.6$ Hz, 2''- H_a), 5.38 (2H, m, 3''- H_b , 3''- H_a), 5.19 (2H, s, 1'- CH_2), 4.86 (2H, dt, $J = 5.6, 1.3$ Hz, 5'- CH_2), 3.63 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''- CH_2 alil) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}$ (385.25 g/mol):* C, 67.60; H, 4.90; Cl, 9.07; N, 14.33; O, 4.09.



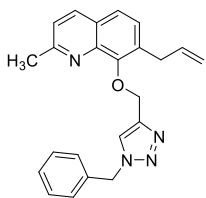
8-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (33): A partir de 0.29 g (1.51 mmol) de **IVb**, 0.26 g (1.96 mmol) de bencilazida **VIIIa**, 19 mg (0.07 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 120 mg (0.60 mmol) de ascorbato de sodio,

se obtuvo 0.41 g del producto como un sólido blanco, con un rendimiento del 83%; m.p. 153 - 154 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3653, 2968, 1634, 1187, 809. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.34 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.18 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 4-H_Q), 7.46 (1H, dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 3-H_Q), 7.42 (1H, d, 7.6 Hz, 6-H_Q), 7.40 - 7.32 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.49 - 7.43 (7H, m, 5-H_Q, H_{Ar}), 5.63 (2H, s, 1'-CH₂), 5.35 (2H, s, 5'-CH₂), 2.61 (3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$ (330.39 g/mol): C, 72.71; H, 5.49; N, 16.96; O, 4.84.



7-Alil-8-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (34): A partir de 0.30 g (1.3 mmol) de **IVe**, 0.23 g (1.7 mmol) de bencilazida **VIIIa**, 17 mg (0.06 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 106 mg (0.54 mmol) de ascorbato de sodio,

se obtuvo 0.36 g del producto como un sólido blanco, con un rendimiento del 77%; m.p. 167 - 168 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3087, 2123, 1612, 1257, 1075. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.94 (1H, d, $J = 3.0$, 2-H_Q), 8.43 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4-H_Q), 8.37 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.81 (3H, m, 9'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 7.53 (2H, m, 7'-H_{Ar}, 11'-H_{Ar}), 7.38 (1H, m, 3-H_Q), 7.31 (1H, dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 5-H_Q), 6.14 (1H, ddt, $J = 17.5, 10.5, 5.5$ Hz, 2''-H_a), 5.63 (2H, s, 1'-CH₂), 5.47 (1H, ddd, $J = 17.5, 3.0, 1.5$, 3''-H_b), 5.36 (1H, ddd, $J = 10.5, 2.6, 1.3$, 3''-H_a), 4.86 (2H, dt, $J = 5.5, 1.3$ Hz, 1'-CH₂), 3.61 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, 1''-CH_{2alil}) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ (356.43 g/mol): C, 74.14; H, 5.66; N, 15.72; O, 4.49.

**7-Alil-8-((1-bencil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (35):**

A partir de 0.28 g (1.2 mmol) de **IVf**, 0.20 g (1.5 mmol) de bencilazida

VIIIa, 15 mg (0.06 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 93 mg (0.47 mmol) de

ascorbato de sodio, se obtuvo 0.35 g del producto como un sólido blanco, con un rendimiento

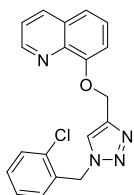
del 81%; m.p. 113 - 114 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 3100, 2098, 1595, 1472, 1384, 1095, 743. **^1H**

RMN (400 MHz, DMSO), δ : 9.04 (s, 1H), 8.92 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 8.48 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H),

7.96 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.70 (dd, $J = 7.8, 3.6$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J =$

8.4 Hz, 1H), 5.45 (s, 2H) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ (356.43 g/mol):* C, 74.57;

H, 5.99; N, 15.12; O, 4.32.

**8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (36):**

A partir de 0.18 g (1,0 mmol) de **IVa**, 0.20 g (1.3 mmol) de bencilazida **VIIIb**, 12 mg (0.049

mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 78 mg (0.39 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo

0.27 g del producto **36** como un sólido beige, con un rendimiento del 78%; m.p. 95 - 96 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.97 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.45 (1H, dd, $J = 8.6,$

1.6 Hz, 4- H_Q), 7.75 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.51 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.48 (1H, d, $J = 8.5$

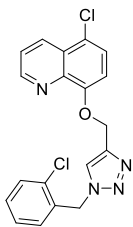
Hz, 6- H_Q), 7.46 (1H, m, 5 H_Q), 7.38 (1H, dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 10'- H_{Ar}), 7.27 (1H, td, $J = 7.6,$

1.9 Hz, 8'- H_{Ar}), 7.25 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 7.21 (1H, td, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.15

(1H, dd, $J = 7.5, 1.9$ Hz, 7'- H_{Ar}), 5.61 (2H, s, 1'- CH_2), 5.51 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. *Anal.*

Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}$ (350,81 g/mol): C, 65.05; H, 4.31; Cl, 10.11; N, 15.97; O,

4.56.



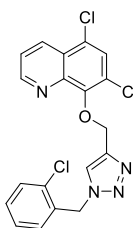
5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37): A

partir de 0.20 g (0.9 mmol) de **IVc**, 0.18 g (1.2 mmol) de bencilazida **VIIIb**, 11

mg (0.046 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 73 mg (0.37 mmol) de ascorbato de sodio,

se obtuvo 0.29 g del producto **37** como un sólido blanco, con un rendimiento del

86%; m.p. 102 - 103 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 1589, 1465, 1373, 1234, 1095, 786, 755. **^1H RMN** (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.93 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.49 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 7.75 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.51 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.48 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 6- H_Q), 7.38 (1H, dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 10'- H_{Ar}), 7.27 (1H, td, $J = 7.6, 1.9$ Hz, 8'- H_{Ar}), 7.25 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 7.21 (1H, td, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.15 (1H, dd, $J = 7.5, 1.9$ Hz, 7'- H_{Ar}), 5.61 (2H, s, 1'- CH_2), 5.51 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. **^{13}C RMN** (100 MHz, CDCl_3), δ : 153.0, 149.9, 143.9, 140.8, 133.6, 133.2, 132.2, 130.6, 130.4, 130.0, 127.7, 127.1, 126.6, 123.9, 122.8, 122.6, 110.1, 63.1, 51.6 ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ (385,25 g/mol):* C, 59.24; H, 3.66; Cl, 18.40; N, 14.54; O, 4.15.



5,7-dicloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina

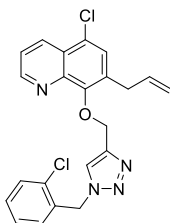
(38): A partir de 0.23 g (0.9 mmol) de **IVd**, 0.18 g (1.2 mmol) de bencilazida

VIIIb, 11 mg (0.046 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 72 mg (0.36 mmol) de ascorbato

de sodio, se obtuvo 0.28 g del producto **38** como un sólido blanco, con un

rendimiento del 74%; m.p. 124 - 125 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 1589, 1465, 1373, 1234, 1095, 786, 755. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.08 (1H, dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz, 2- H_Q), 8.58 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 8.17 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.90 (1H, s, 6- H_Q), 7.77 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.51 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, 10'- H_{Ar}), 7.40 (1H, td, $J = 7.6, 1.7$ Hz, 8'- H_{Ar}), 7.35 (1H, td, $J = 7.4, 1.4$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.04 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, 7'- H_{Ar}), 5.68 (2H, s, 1'- CH_2), 5.61 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. **^{13}C RMN** (100 MHz, CDCl_3), δ : 152.4, 148.6, 144.9, 141.5, 134.3, 133.5, 130.7,

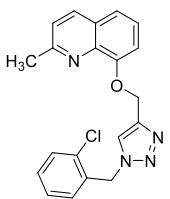
130.5, 129.6, 129.3, 128.2, 127.8, 126.9, 122.8 (2C), 122.3, 120.4, 60.3, 50.6 ppm. *Anal. Calculado para* C₁₉H₁₃Cl₃N₄O (419,69 g/mol): C, 54.38; H, 3.12; Cl, 25.34; N, 13.35; O, 3.81.



7-Alil-5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-

il)metoxi)quinolina (39): A partir de 0.15 g (0.6 mmol) de **IVg**, 0.12 g (0.8 mmol) de bencilazida **VIIIb**, 7 mg (0.029 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 46 mg (0.23 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.22 g del producto **39** como

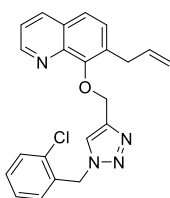
un sólido beige, con un rendimiento del 88%; m.p. 138 - 139 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 1589, 1465, 1373, 1234, 1095, 786, 755. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃), δ: 8.93 (1H, dd, *J* = 4.2, 1.6 Hz, 2-H_Q), 8.49 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz, 4-H_Q), 7.75 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.51 (1H, dd, *J* = 8.6, 4.2 Hz, 3-H_Q), 7.48 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, 6-H_Q), 7.38 (1H, dd, *J* = 7.9, 1.3 Hz, 10'-H_{Ar}), 7.27 (1H, td, *J* = 7.6, 1.9 Hz, 8'-H_{Ar}), 7.25 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, 7-H_Q), 7.21 (1H, td, *J* = 7.9, 1.3 Hz, 9'-H_{Ar}), 7.15 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.9 Hz, 7'-H_{Ar}), 5.61 (2H, s, 1'-CH₂), 5.51 (2H, s, 5'-CH₂) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃), δ: 153.0, 149.9, 143.9, 140.8, 133.6, 133.2, 132.2, 130.6, 130.4, 130.0, 127.7, 127.1, 126.6, 123.8, 122.9, 122.5, 110.1, 63.1, 51.6 ppm. *Anal. Calculado para* C₁₉H₁₃Cl₃N₄O (425,31 g/mol): C, 62.13; H, 4.27; Cl, 16.67; N, 13.17; O, 3.76.



8-((1-(2-Clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (40):

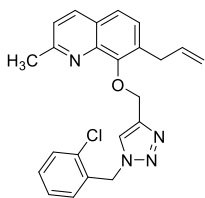
A partir de 0.18 g (0.9 mmol) de **IVb**, 0.18 g (1.2 mmol) de bencilazida **vi**, 11 mg (0.046 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 72 mg (0.36 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.29 g del producto **40** como un sólido blanco, con un rendimiento del 87%; m.p. 114 - 115 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 3589, 2659, 1456, 1195, 755. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO), δ:

8.31 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.16 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 4-H_Q), 7.51 (1H, dd, $J = 7.7, 1.5$ Hz, 3-H_Q), 7.46 (1H, dd, $J = 8.0, 1.3$ Hz, 5-H_Q), 7.42 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, 6-H_Q), 7.39 (1H, s, 7-H_Q), 7.36 (2H, dd, $J = 3.7, 1.6$ Hz, 7'-H_{Ar} - 8'-H_{Ar}), 7.34 (1H, dd, $J = 7.3, 1.5$ Hz, 9'-H_{Ar}), 7.23 (1H, dd, $J = 7.4, 1.8$ Hz, 10'-H_{Ar}), 5.73 (2H, s, 5'-CH₂), 5.39 (2H, s, 1'-CH₂), 2.61 (3H, s, 2-CH₃) ppm.
Anal. Calculado para C₂₀H₁₇ClN₄O (364,83 g/mol): C, 65.84; H, 4.70; Cl, 9.72; N, 15.36; O, 4.39.



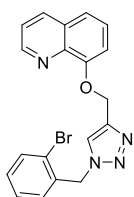
7-Alil-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (41):

A partir de 0.15 g (0.6 mmol) de **IVe**, 0.13 g (0.9 mmol) de bencilazida **vi**, 8 mg (0.034 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 53 mg (0.27 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.20 g del producto **41** como un sólido blanco, con un rendimiento del 75%; m.p. 122 - 123 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 1589, 1465, 1373, 1234, 1095, 786, 755. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃), δ : 8.93 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2-H_Q), 8.49 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4-H_Q), 7.75 (1H, s, 3'-H_{TA}), 7.51 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3-H_Q), 7.48 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 6-H_Q), 7.38 (1H, dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 10'-H_{Ar}), 7.27 (1H, td, $J = 7.6, 1.9$ Hz, 8'-H_{Ar}), 7.25 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7-H_Q), 7.21 (1H, td, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 9'-H_{Ar}), 7.15 (1H, dd, $J = 7.5, 1.9$ Hz, 7'-H_{Ar}), 5.61 (2H, s, 1'-CH₂), 5.51 (2H, s, 5'-CH₂) ppm. **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ 153.0, 149.9, 143.9, 140.8, 133.6, 133.2, 132.2, 130.6, 130.4, 130.0, 127.7, 127.1, 126.6, 123.8, 122.9, 122.5, 110.1, 63.0, 51.6. *Anal. Calculado para C₂₂H₁₉ClN₄O* (390,87 g/mol): C, 67.60; H, 4.90; Cl, 9.07; N, 14.33; O, 4.09.



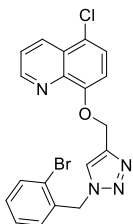
7-Alil-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina (42): A partir de 0.17 g (0.7 mmol) de **IVf**, 0.14 g (0.9 mmol) de bencilazida **VIIIb**, 9 mg (0.036 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 57 mg (0.29

mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.24 g del producto **42** como un sólido blanco, con un rendimiento del 83%; m.p. 165 - 166 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 1589, 1465, 1373, 1234, 1095, 786, 755. **^1H RMN** (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.93 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.49 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 7.75 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.51 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.48 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 6- H_Q), 7.38 (1H, dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 10'- H_{Ar}), 7.27 (1H, td, $J = 7.6, 1.9$ Hz, 8'- H_{Ar}), 7.25 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 7.21 (1H, td, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.15 (1H, dd, $J = 7.5, 1.9$ Hz, 7'- H_{Ar}), 5.61 (2H, s, 1'- CH_2), 5.51 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. **^{13}C RMN** (100 MHz, CDCl_3), δ : 153.0, 149.9, 143.9, 140.8, 133.6, 133.2, 132.2, 130.6, 130.4, 130.0, 127.7, 127.1, 126.6, 123.8, 122.9, 122.5, 110.1, 63.1, 51.6. *Anal. Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}$ (404,90 g/mol):* C, 68.23; H, 5.23; Cl, 8.76; N, 13.84; O, 3.95.



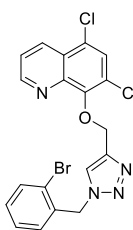
8-((1-(2-Bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (43): A partir de 0.20 g (1.1 mmol) de **IVa**, 0,22 g (1.4 mmol) de bencilazida **VIIIc**, 14 mg (0.055 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 87 mg (0.44 mmol) de ascorbato de sodio, se

obtuvo 0.33 g del producto **43** como un sólido blanco, con un rendimiento del 76%; m.p. 85 - 85 °C. **^1H RMN** (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.92 (1H, dd, $J = 4.2, 1.5$ Hz, 2- H_Q), 8.41 (1H, dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 4- H_Q), 7.69 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.51 (1H, m, 3- H_Q), 7.42 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 6- H_Q), 7.35 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 10'- H_{Ar}), 7.23 (1H, td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 8'- H_{Ar}), 7.28 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 7- H_Q), 7.21 (1H, td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 9'- H_{Ar}), 7.11 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 7'- H_{Ar}), 5.65 (2H, s, 1'- CH_2), 5.49 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}$ (395,26 g/mol):* C, 57.74; H, 3.83; Br, 20.22; N, 14.17; O, 4.05.

**5-Cloro-8-((1-(2-bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (44):**

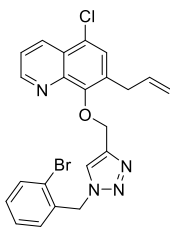
A partir de 0.23 g (1.2 mmol) de **IVc**, 0.25 g (1.6 mmol) de bencilazida **VIIIc**, 16 mg (0.063 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 99 mg (0.50 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.38 g del producto **44** como un sólido blanco, con un

rendimiento del 71%; m.p. 133 - 134 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 1553, 1461, 1325, 1289, 799. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.92 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, 2- H_Q), 8.49 (1H, dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 4- H_Q), 8.33 (1H, s, 3'- H_TA), 7.70 (3H, m, 3- H_Q , 6- H_Q , 10'- H_Ar), 7.40 (2H, m, 8'- H_Ar , 9'- H_Ar), 7.31 (1H, td, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 7- H_Q), 7.18 (1H, dd, $J = 7.5, 1.4$ Hz, 7'- H_Ar), 5.72 (2H, s, 1'- CH_2), 5.39 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. **^{13}C RMN** (101 MHz, DMSO), δ : 153.3, 152.6, 149.8, 142.5, 140.3, 139.9, 134.8, 132.9, 132.2, 130.5, 128.3, 126.7, 125.5, 122.9, 122.1, 121.2, 110.4, 62.0, 53.0 ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{BrClN}_4\text{O}$ (429,70 g/mol): C, 53.11; H, 3.28; Br, 18.60; Cl, 8.25; N, 13.04; O, 3.72.

**5,7-Dicloro-8-((1-(2-bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina**

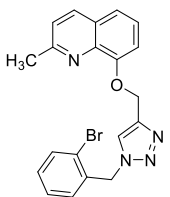
(45): A partir de 0.17 g (0.7 mmol) de **IVd**, 0.13 g (0.9 mmol) de bencilazida **VIIIc**, 8 mg (0.034 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 53 mg (0.27 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.22 g del producto **45** como un sólido blanco, con un

rendimiento del 72%; m.p. 151 - 152 °C. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 9.02 (1H, dd, $J = 4.3, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.27 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4- H_Q), 8.04 (1H, s, 3'- H_TA), 7.85 (1H, s, 6- H_Q), 7.63 (1H, dd, $J = 8.5, 4.3$ Hz, 3- H_Q), 7.47 (2H, d, m, 7'- H_Ar , 8'- H_Ar), 7.35 (2H, m, 7'- H_Ar , 10'- H_Ar), 5.68 (2H, s, 1'- CH_2), 5.61 (2H, s, 5'- CH_2) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{BrCl}_2\text{N}_4\text{O}$ (464,14 g/mol): C, 49.17; H, 2.82; Br, 17.22; Cl, 15.28; N, 12.07; O, 3.45.

**7-Alil-5-cloro-8-((1-(2-bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)**

quinolina (46): A partir de 0.15 g (0.6 mmol) de **IVg**, 0.12 g (0.8 mmol) de bencilazida **VIIIc**, 7 mg (0.029 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 46 mg (0.23 mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.19 g del producto **46** como un sólido

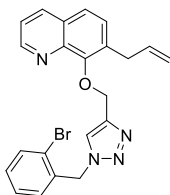
blanco, con un rendimiento del 71%; m.p. 177 - 178 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 1544, 1392, 1201, 786. **^1H RMN** (400 MHz, CDCl_3), δ : 8.47 (1H, dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 2- H_Q), 8.03 (1H, dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 4- H_Q), 7.29 (1H, s, 3'- H_{TA}), 7.05 (1H, dd, $J = 8.6, 4.2$ Hz, 3- H_Q), 7.02 (1H, s, 6- H_Q), 6.91 (1H, dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 10'- H_{Ar}), 6.83 - 6.80 (1H, m, 8'- H_{Ar}), 6.80 - 6.78 (1H, m, 9'- H_{Ar}), 6.75 (1H td, $J = 7.5, 1.4$ Hz, 7'- H_{Ar}), 6.18 (1H, m, 2''- H_a), 5.25 - 5.17 (2H, m, 3''- H_b , 3''- H_a), 5.15 (2H, s, 1'- CH_2), 5.04 (2H, s, 5'- CH_2), 3.66 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, $\text{CH}_{2\text{alil}}$) ppm. *Anal. Calculado para* $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{BrClN}_4\text{O}$ (469,77 g/mol): C, 56.25; H, 3.86; Br, 17.01; Cl, 7.55; N, 11.93; O, 3.41.

**8-((1-(2-Bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metilquinolina**

(47): A partir de 0.17 g (0.9 mmol) de **IVb**, 0.17 g (1.1 mmol) de bencilazida **VIIIc**, 11 mg (0.043 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 68 mg (0.34 mmol) de

ascorbato de sodio, se obtuvo 0.27 g del producto **47** como un sólido blanco, con un rendimiento del 77%; m.p. 144 - 145 °C. **IR** (KBr, cm^{-1}): 1563, 1309, 1214, 812. **^1H RMN** (400 MHz, DMSO), δ : 8.31 (1H, s, 3'- H_{TA}), 8.18 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, 4- H_Q), 7.69 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 10'- H_{Ar}), 7.47 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 5- H_Q), 7.44 - 7.40 (2H, m, 3- H_Q , 6- H_Q), 7.39 (1H, dd, $J = 4.4, 1.6$ Hz, 8'- H_{Ar}), 7.37 - 7.29 (m, 9'- H_{Ar} , 7'- H_{Ar}), 7.17 (1H, dd, $J = 7.6, 1.6$ Hz, 6- H_Q), 5.72 (2H, s, 5'- CH_2), 5.37 (2H, s, 1'- CH_2), 2.62 (3H, s, 2- CH_3) ppm. **^{13}C RMN** (100 MHz, CDCl_3), δ : 158.2, 157.8, 144.91, 139.9, 137.3, 133.4, 133.3, 130.1, 128.3,

127.8, 127.4, 125.0, 124.9, 122.6, 122.4, 120.0, 112.0, 58.5, 50.3, 24.0 ppm. *Anal. Calculado para* C₂₀H₁₇BrN₄O (409,29g/mol): C, 58.69; H, 4.19; Br, 19.52; N, 13.69; O, 3.91.



7-Alil-8-((1-(2-bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (48):

A partir de 0.15 g (0.7 mmol) de **IVe**, 0.13 g (0.9 mmol) de bencilazida **VIIIc**,

8 mg (0.034 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 53 mg (0.27 mmol) de ascorbato de

sodio, se obtuvo 0.21 g del producto **48** como un sólido blanco, con un rendimiento del 72%;

m.p. 102 -103 °C. ¹H RMN (400 MHz, DMSO), δ: 9.02 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.92 (1H, d, *J* = 3.0,

2-H_Q), 8.43 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 4-H_Q), 7.85 (2H, dd, *J* = 7.5, 1.6, 9'-H_{Ar}, 10'-H_{Ar}), 7.63

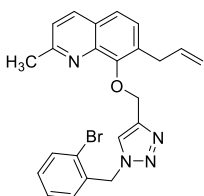
(2H, m, 7'-H_{Ar}, 8'-H_{Ar}), 7.35 (1H, m, 3-H_Q), 7.28 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 5-H_Q), 6.12 (1H,

ddd, *J* = 17.5, 10.5, 5.5 Hz, 2''-H_a), 5.41 (1H, ddd, *J* = 17.5, 3.0, 1.5, 3''-H_b), 5.36 (1H, ddd,

J = 10.5, 3.0, 1.5, 3''-H_a), 4.78 (2H, dt, *J* = 5.5, 1.5 Hz, 1'-CH₂), 3.82 (2H, d, *J* = 6.5 Hz, 1''-

CH_{2alil}) ppm. *Anal. Calculado para* C₂₂H₁₉BrN₄O (435,32g/mol): C, 60.70; H, 4.40; Br,

18.36; N, 12.87; O, 3.68.



7-Alil-8-((1-(2-bromobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2-metil

quinolina (49): A partir de 0.20 g (0.8 mmol) de **IVf**, 0.17 g (1.1 mmol)

de bencilazida **VIIIc**, 11 mg (0.042 mmol) de CuSO₄·5H₂O y 67 mg (0.34

mmol) de ascorbato de sodio, se obtuvo 0.31 g del producto **49** como un sólido blanco, con

un rendimiento del 81%; m.p. 164 - 165 °C. **IR** (KBr, cm⁻¹): 1589, 1465, 1373, 1234, 1095,

786, 755. ¹H RMN (400 MHz, DMSO), δ: 9.05 (1H, s, 3'-H_{TA}), 8.27 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.7

Hz, 4-H_Q), 7.98 (2H, dd, *J* = 7.5, 1.5, 10'-H_{Ar}, 9'-H_{Ar}), 7.47 (2H, m, 8'-H_{Ar}, 7'-H_{Ar}), 7.64 (1H,

m, 3-H_Q), 7.46 (2H, m, 5-H_Q, 6-H_Q), 6.12 (1H, m, 2''-H_a), 5.35 (1H, m, 3''-H_b), 5.42 (1H,

m, 3''-H_a), 4.82 (2H, dt, *J* = 5.5, 1.6 Hz, 1'-CH₂), 3.61 (2H, d, *J* = 6.5 Hz, 1''-CH_{2alil}), 2.72

(3H, s, 2-CH₃) ppm. *Anal. Calculado para* C₂₃H₂₁BrN₄O (449,35 g/mol): C, 61.48; H, 4.71; Br, 17.78; N, 12.47; O, 3.56.

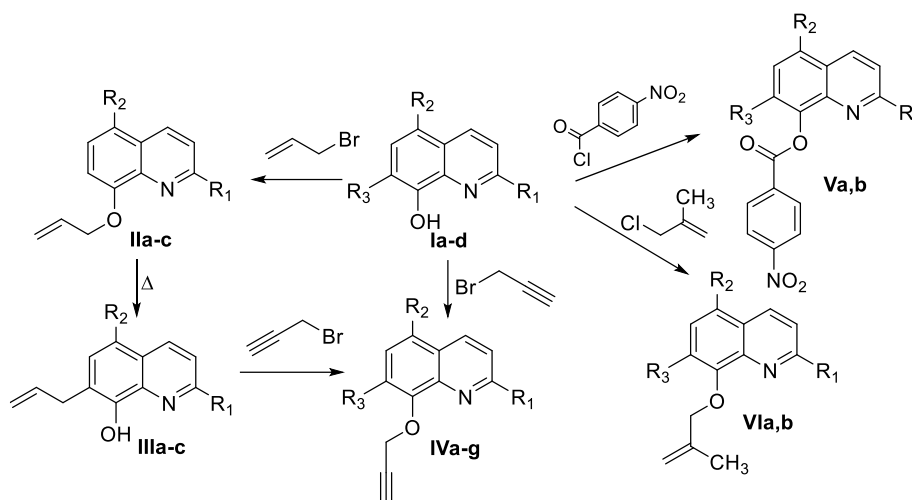
2.4 Discusión de resultados

2.4.1 Etapa A. Diversificación del anillo 8-hidroxiquinolínico.

La primera etapa del desarrollo del presente proyecto contempló el diseño de diferentes rutas sintéticas conocidas y de fácil ejecución con el objetivo de diversificar el anillo 8-hidroxiquinolínico de cuatro 8-hidroxiquinolinas comerciales, - 8-hidroxiquinolina (**Ia**), 2-metil-8-hidroxiquinolina (**Ib**), 5-cloro-8-hidroxiquinolina (**Ic**) y 5,7-dicloroquinolina (**Id**) haciendo moléculas quinolónicas precursoras de los híbridos deseados. Un esquema general de la síntesis de derivados de la 8-hidroxiquinolina (en total 21 derivados sintéticos) que se llevó a cabo mediante reacciones de sustitución sobre el grupo hidroxilo de la molécula se presenta en la Figura 32; algunos de los cuales fueron empleados como precursores en síntesis posteriores sirviéndose de las propiedades químicas de cada uno de los fragmentos añadidos.

Figura 32.

Esquema general de síntesis de análogos de 8-hidroxiquinolina (8-HQ).



Comp.	R ₁	R ₂	R ₃
Ia-VIa	H	H	H
Ib-VIb	CH ₃	H	H
Ic-IVc	H	Cl	H
Id-IVd	H	Cl	Cl
IVe	H	H	Alilo
IVf	CH ₃	H	Alilo
IVg	H	Cl	Alilo

2.4.1.2 Síntesis de derivados *O*-alilados

En primer lugar, a través de una reacción de *O*-alilación de la 8-hidroxiquinolina (**Ia**) y sus análogos sustituidos **Ib,c** (figura 33) y condiciones previamente estudiadas y reportadas por el grupo de investigación (Muñoz Acevedo, 2010) empleando bromuro de alilo,

carbonato de potasio y acetona como disolvente se obtuvieron tres *O*-alil-derivados quinolínicos **IIa-c** con buenos rendimientos. Algunas características propiedades físicas que se muestran en la Tabla 1.

Figura 33.

Preparación de derivados O-alilados IIa-c a partir de 8-hidroquinolinas comerciales

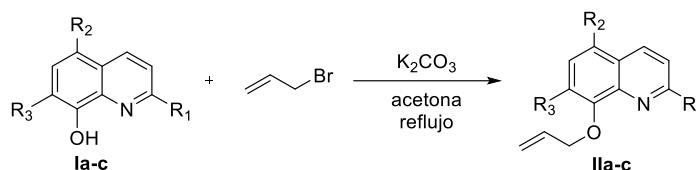


Tabla 1.

Resumen general de derivados obtenidos de la reacción O-alilación.

Comp. II	R ₁	R ₂	R ₃	Fórmula condensada	Rto (%)	Aspecto físico	Punto de fusión, °C
a	H	H	H	C ₁₂ H ₁₁ NO	83	Aceite naranja	-
b	CH ₃	H	H	C ₁₃ H ₁₃ NO	81	Aceite amarillo	-
c	H	Cl	H	C ₁₂ H ₁₀ ClNO	78	Sólido beige	89 - 91

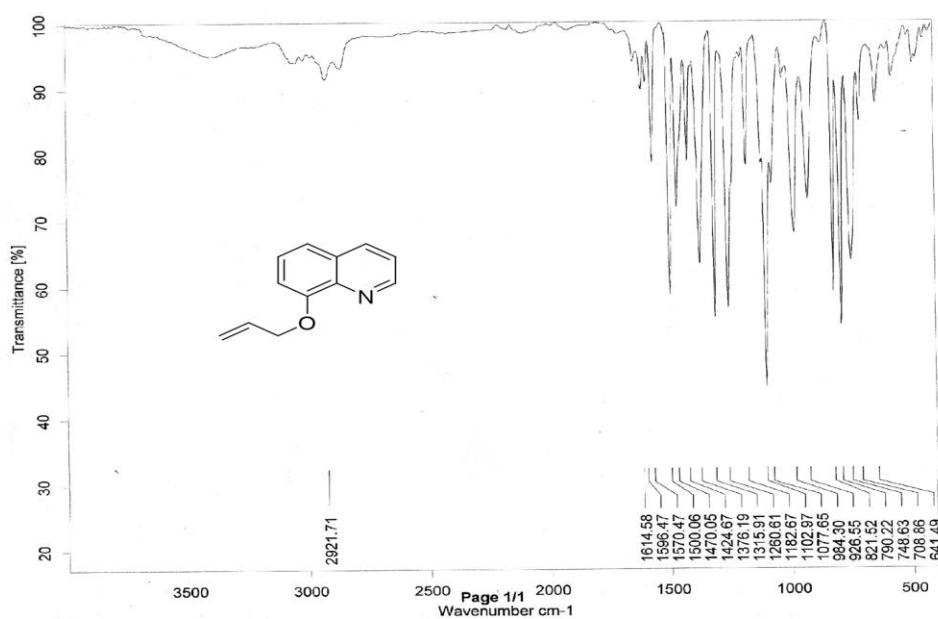
Las estructuras de los derivados *O*-alilados fueron corroboradas mediante técnicas espectroscópicas. La introducción del grupo alilo dentro de las estructuras se vio reflejada en los espectros de infrarrojo por la desaparición de las bandas de tensión del grupo hidroxilo y la aparición de las bandas de absorción características del grupo alilo.

El espectro IR del compuesto **IIa** se muestra en la figura 34 y se presenta a manera de ejemplo, donde las frecuencias de tensión del enlace =C-H oléfinico asimétrico y las del

enlace C=C del grupo alilo aparecen en 3070 cm^{-1} y 1614 cm^{-1} , respectivamente. Igualmente, el espectro muestra las bandas de absorción de estiramiento simétrico y asimétrico de la función éter C-O-C en 1260 cm^{-1} y 1077 cm^{-1} correspondientemente y la tensión C-H de la función $-\text{OCH}_2-$ (2921 cm^{-1}).

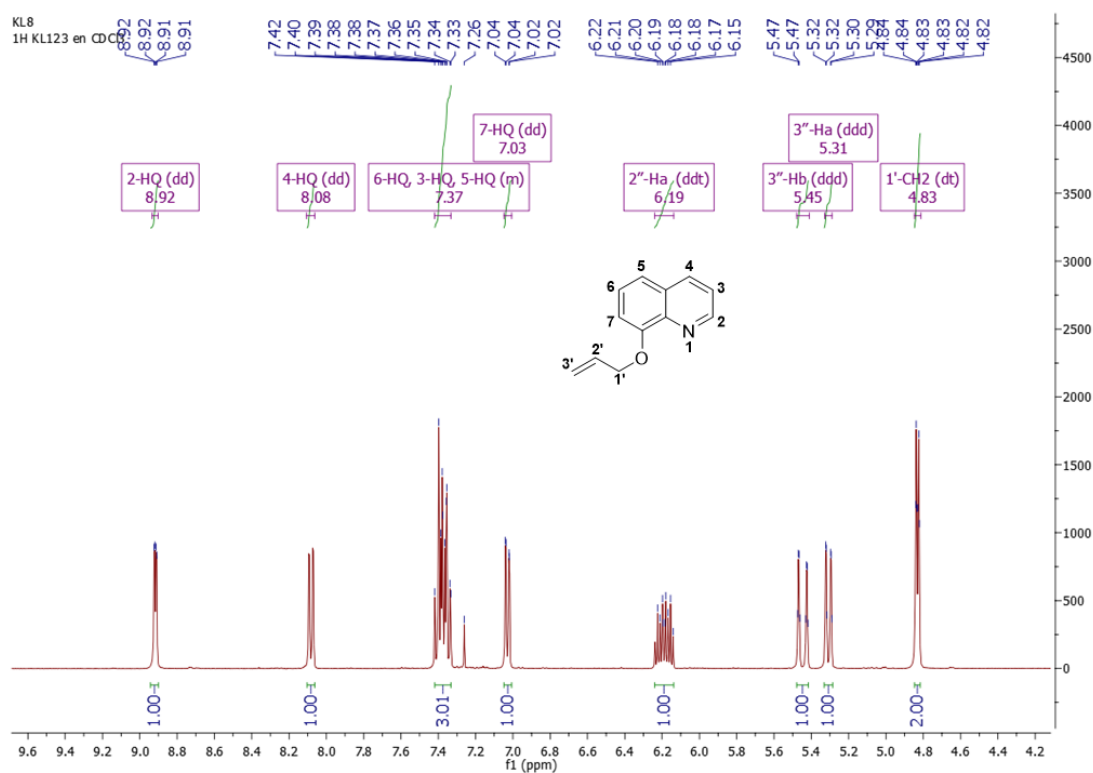
Figura 34.

Espectro IR de 8-(aliloxi)quinolina (IIa).



Los experimentos de resonancia magnética nuclear de protones permitieron la confirmación de las respectivas estructuras. En la figura 35 se muestra el espectro $^1\text{H-RMN}$ de **IIa**. Se observa la distribución de los protones aromáticos, olefínicos y alifáticos.

Figura 35.

Espectro ^1H -RMN de 8-(aliloxi)quinolina (IIa).

Las señales producidas por los hidrógenos olefínicos y los metilénicos, así como sus respectivos desdoblamientos se repiten para todos los alil-derivados sintetizados, aunque con algunas diferencias en sus desplazamientos químicos. La multiplicidad para el protón olefínico 2''-Ha que se presenta a 6.19 ppm fue doble doblete de tripletes con constantes de acoplamiento de 17.3 Hz que corresponden al acoplamiento *trans* con el protón 3''-Hb, 10.6 Hz correspondiente a su acoplamiento *cis* con el protón 3''-Ha y 5.5 Hz correspondiente a su acoplamiento con los protones metilénicos 1'-CH₂. Se confirma la asignación con las señales a 5.45 ppm y 5.31 ppm asignadas a los protones 3''-Hb y 3''-Ha.

Las señales características de la presencia del grupo alilo correspondiente a los protones 2''-Ha, 3''-Ha, 3''-Hb y 1'-CH₂ de los derivados se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2.

*Señales características de los hidrógenos alílicos encontrados en los compuestos **IIa-c**.*

Comp.	Señales ¹ H-RMN [δ (ppm), multiplicidad, y J (Hz)]			
	2''-Ha	3''-Ha	3''-Hb	1'-CH ₂
IIa	6.19, ddt, J = 17.3, 10.6, 5.5	5.31, ddd, J = 10.5, 2.6, 1.3	5.45, ddd, J = 17.3, 3.0, 1.5	4.83, dt, J = 5.5, 1.3
IIb	6.04, ddt, J = 17.1, 10.4, 5.3	5.30, dd, J = 10.5, 1.6	5.43, dq, J = 17.3, 1.6	4.74, d, J = 5.3 Hz,
IIc	6.14, ddt, J = 17.2, 10.6, 5.3	5.30, dd, J = 10.5, 1.7	5.49, dq, J = 17.3, 1.	4.74, d, J = 5.3

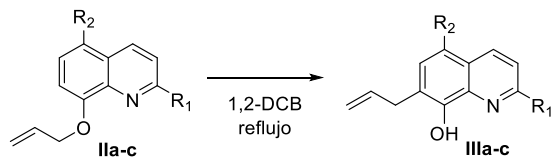
El análisis del espectro de ¹³C RMN de 8-aliloxiquinolina (**IIa**) indicó que el número de señales en el espectro coinciden con el número de señales esperado para la molécula. Dentro de las señales encontradas se destacan las señales presentes en 69.81 ppm, 133.15 ppm y 118.44 ppm correspondiente al fragmento alílico.

2.4.1.2 Transposición de Claisen

Los derivados *o*-alilados obtenidos de la etapa anterior fueron sometidos a reacción de transposición de Claisen térmica (Figura 36) con el fin de dejar disponible la posición hidroxilo para poder realizar luego la reacción de *O*-propargilación.

Figura 36.

Síntesis de 7-alil-8-hidroxiquinolinas IIIa-c obtenidas a través de transposición de Claisen.



Para llevar a cabo esta reacción se empleó 1,2-diclorobenceno (1,2-DCB) como disolvente de carácter polar con alta temperatura de ebullición, características necesarias de un disolvente para asistir la reacción de transposición (Hiersemann & Nubbemeyer, 2007). Los productos obtenidos **IIIa-c** y sus principales características físicas se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3.

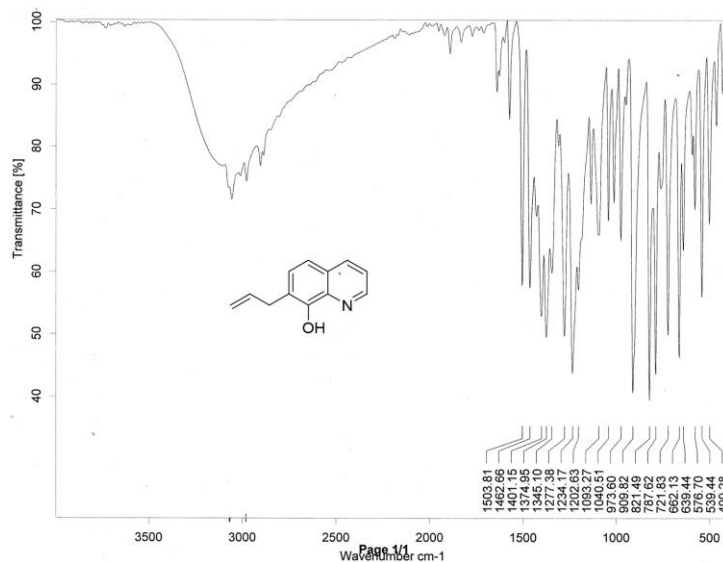
Resumen general de derivados IIIa-c obtenidos de la reacción de transposición.

Comp. III	R ₁	R ₂	Rto (%)	Fórmula condensada	Aspecto físico	Punto de fusión, °C
a	H	H	71	C ₁₂ H ₁₁ NO	Aceite amarillo	-
b	CH ₃	H	64	C ₁₃ H ₁₃ NO	Aceite amarillo	-
c	H	Cl	87	C ₁₂ H ₁₀ ClNO	Sólido blanco	105 – 107

El reordenamiento intramolecular del grupo alilo en las estructuras de las 8-aliloxiquinolinas (**IIa-c**) y su transformación a las respectivas 7-alil-8-hidroxiquinolinas (**IIIa-c**) se evidenció en un primer momento mediante espectroscopía de infrarrojo. A manera de ejemplo, el análisis del espectro IR del compuesto **IIIa** permite observar nuevamente las frecuencias de tensión y flexión del grupo hidroxilo y la conservación de las bandas características del grupo alilo. Del espectro se destacan además de las señales características del grupo alilo de su derivado precursor, las señales a 3175, 1462, 1234 (cm^{-1}) que pueden ser atribuidas a las flexiones y estiramientos del grupo -OH (figura 37).

Figura 37.

Espectro IR de 7-alilquinolin-8-ol (IIIa).

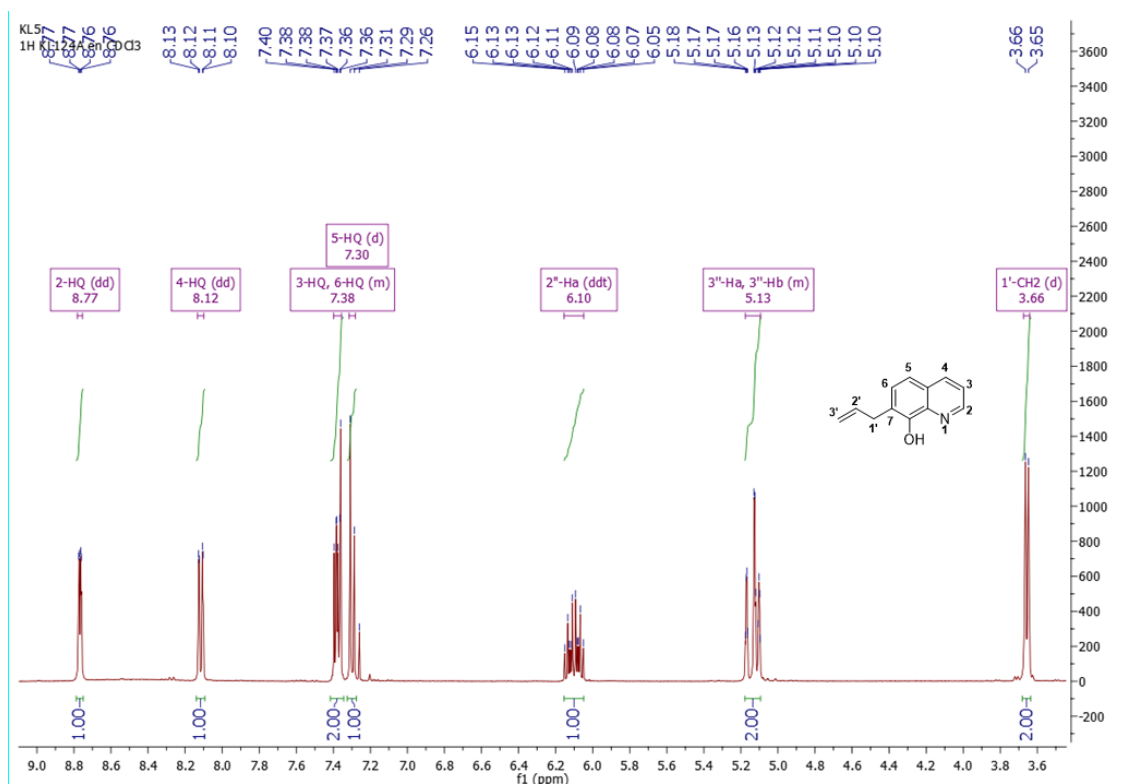


La confirmación estructural de los derivados transpuestos se llevó a cabo mediante RMN de protones y carbono. En la figura 38 se muestra el espectro ^1H -RMN en el cual se pueden destacar las señales características del grupo alilo como en su derivado precursor **IIa**

y la ausencia de la señal de resonancia del protón 7-H_Q. Lo que permite confirmar el reordenamiento intramolecular del grupo alilo de la posición 8 unido a un átomo de oxígeno a la posición 7 del anillo quinolínico. La anterior afirmación se puede corroborar también observando el moderado desplazamiento químico junto con la multiplicidad ya no tan evidente de las señales correspondientes a los protones olefinicos (3''-Ha y 3''-Hb) que muestran un corrimiento hacia campos más altos pasando de un desplazamiento químico de 5.45 – 5.31 ppm a 5.18 - 5.09 ppm.

Figura 38.

Espectro 1H RMN de 7-alil-8-hidroxiquinolina (IIIa).



Las señales características de la presencia del grupo alilo correspondiente a los protones 2''-Ha, 3''-Ha, 3''-Hb y 1'-CH₂ de los derivados se resumen en la Tabla 4. Otro

cambio espectral confirmatorio de la obtención de los compuestos transpuestos se observó por el corrimiento de la señal característica del carbono del sistema alílico 1'-CH₂ que al estar enlazado a un átomo electronegativo como el oxígeno resonó a campos más bajos mientras que si se encontraba enlazado al sistema aromático del anillo quinolínico resonó a campos más altos.

Tabla 4.

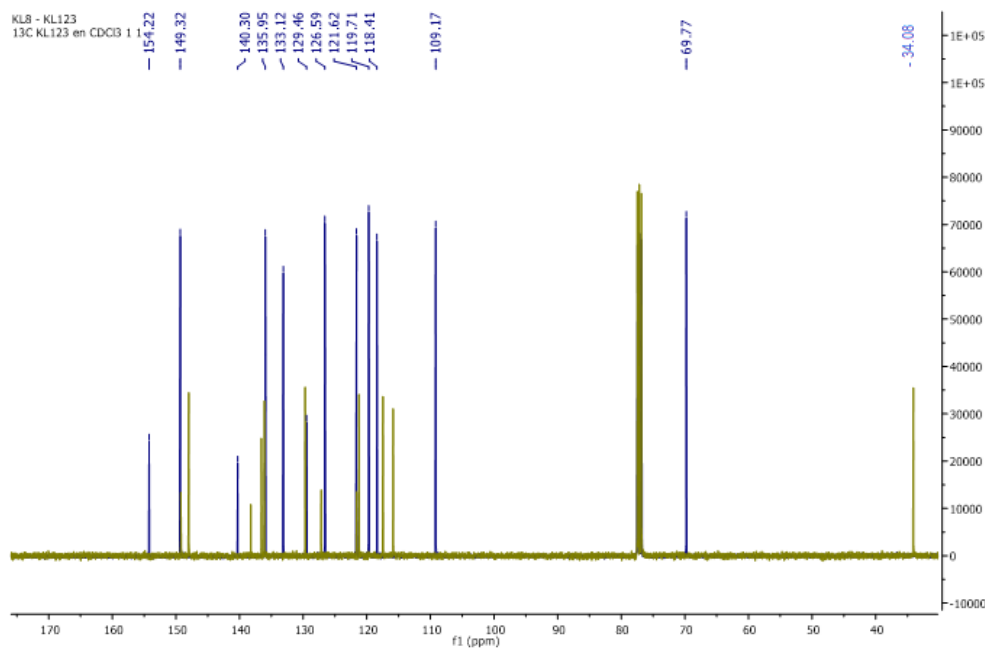
Señales características de los hidrógenos alílicos encontrados en los compuestos **IIIa-c**.

Comp. III	Señales ¹ H-RMN [δ (ppm), multiplicidad, y <i>J</i> (Hz)]			
	2''-Ha	3''-Ha	3''-Hb	1'-CH ₂
a	6.10, ddt,	5.18 – 5.09, m		3.66, d,
	<i>J</i> = 16.6, 10.0, 6.5			<i>J</i> = 6.5 Hz
b	5.97, ddt,	5.12, dd,	5.32, dq,	4.32, d,
	<i>J</i> = 17.2, 10.5, 5.2	<i>J</i> = 10.5, 1.6	<i>J</i> = 17.3, 1.6	<i>J</i> = 5.3 Hz,
c	6.14, ddt,	5.30, dd,	5.43, dq,	4.80, dt,
	<i>J</i> = 17.3, 10.6, 5.5	<i>J</i> = 10.5, 1.3	<i>J</i> = 17.3, 1.6	<i>J</i> = 5.4, 1.4

Una confirmación de la frase anterior se comprueba en la superposición de los espectros de ¹³C-RMN de la oxiquinolina O-allilada **IIa** (azul) y la 7-allil-oxiquinolina **IIIa** (verde) donde se ven claramente sus respectivos señales de grupo CH₂ (69.77 ppm y 34.08 ppm) (figura 39).

Figura 39.

Comparación de los espectros de ^{13}C -RMN de los compuestos IIa (azul) y IIIa (verde).



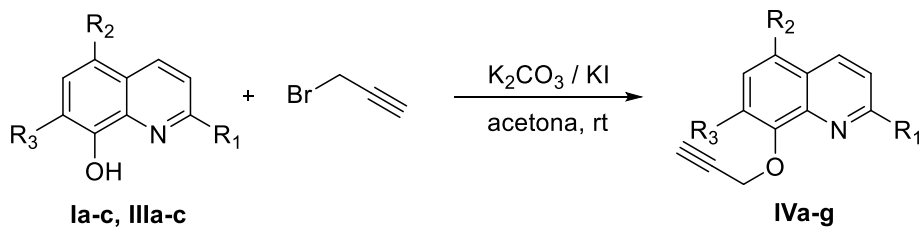
2.4.1.3 Síntesis de derivados *O*-propargilados

La importancia de la inclusión del fragmento propargilo a los derivados 8-hidroxiquinolínicos radica en la variedad de reacciones que pueden llevarse a cabo a través de la química de los alquinos para generar nuevas librerías de híbridos moleculares que incluyan este heterociclo como uno de sus farmacóforos.

Como el mecanismo de la reacción también incluye la formación de un ion alcóxido a través de la abstracción de un protón por una base, se empleó carbonato de potasio la cual arrojó buenos resultados en la etapa anterior de reacción de alilación. Así mismo se empleó yoduro de potasio para generar un intercambio del átomo de bromo por el átomo de yodo, el cual es mejor grupo saliente en la subsecuente reacción de sustitución (figura 40).

Figura 40.

Preparación de derivados *O*-propargilados de 8-hidroxiquinolinas comerciales y sintéticas.



Los derivados propargilados se obtuvieron como aceites y sólidos de color beige a rojizos y con rendimientos aceptables entre 63-84% (Tabla 5).

Tabla 5.

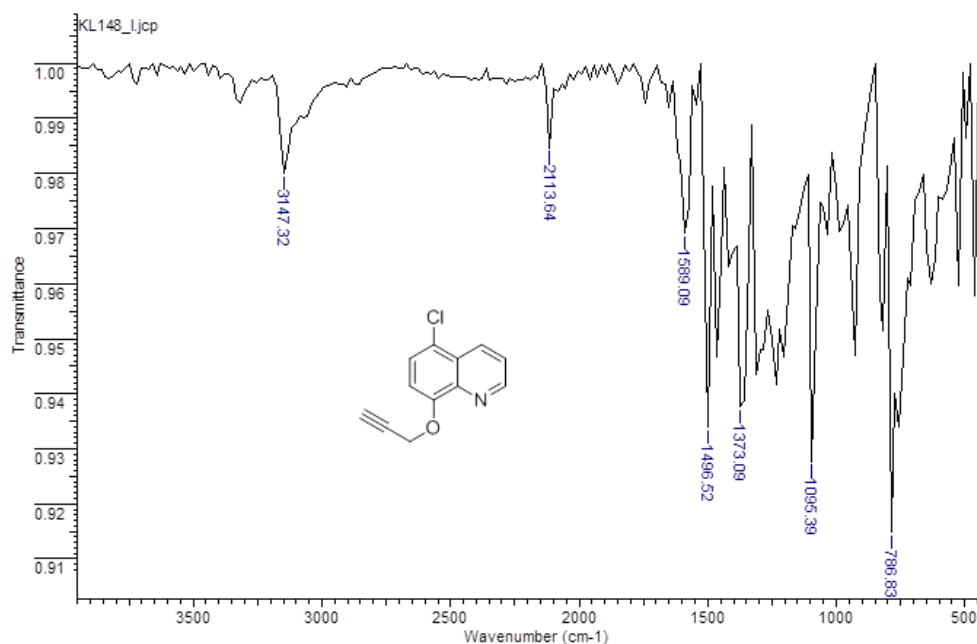
Derivados 8-hidroxiquinolínicos *O*-propargilados **IVa-g**.

Comp.I	R ₁	R ₂	R ₃	Rto (%)	Fórmula condensada	Aspecto físico	Punto de fusión (°C)
V							
a	H	H	H	70	C ₁₂ H ₉ NO	Aceite pardo oscuro	-
b	CH ₃	H	H	78	C ₁₃ H ₁₁ NO	Aceite amarillo traslúcido	-
c	H	Cl	H	63	C ₁₂ H ₈ ClNO	Sólido beige	116 - 118
d	H	Cl	Cl	84	C ₁₂ H ₇ Cl ₂ NO	Sólido blanco	107 - 109
e	H	H	Alilo	81	C ₁₅ H ₁₃ NO	Aceite amarillo	-
f	CH ₃	H	Alilo	84	C ₁₆ H ₁₅ NO	Aceite amarillo	-
g	H	Cl	Alilo	78	C ₁₅ H ₁₂ ClNO	Aceite amarillo	-

La estructura de los compuestos sintetizados fue confirmada mediante análisis instrumental. Haciendo uso de espectroscopia infrarroja, se puede confirmar la desaparición de la banda de tensión propia del grupo -OH y la aparición de la banda de tensión y flexión del grupo alquino terminal (C-H) en 3100 cm^{-1} y 740 cm^{-1} , así como la tensión ($\text{C}\equiv\text{C}$) alrededor de 2100 cm^{-1} (figura 41).

Figura 41.

Espectro IR de la 5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVa).



La estructura de los compuestos propargilados fue también confirmada mediante el método $^1\text{H-RMN}$. El espectro del compuesto 5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (**IVc**), donde se pueden apreciar 7 grupos de señales que integran para 8 protones como era de esperarse para la molécula sintetizada (figura 42).

A campo más alto se encuentra ubicada la señal en 8.94 ppm correspondiente al protón 2-H_Q (dd, $J = 4.2, 1.7$ Hz), que aparece como un doblete y acopla en posición meta con el protón 4-H_Q (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz) como se puede corroborar con su constante de acoplamiento de 1.7 Hz. Este último protón a su vez ve en su entorno químico al protón 3-H_Q con un corrimiento a 7.50 ppm (dd, $J = 8.6, 4.1$ Hz) cuya señal aparece solapada con la dobleta asignada del protón 6-H_Q a 7.50 ppm (d, $J = 8.4$ Hz) que a su vez desdobla con un constante de acoplamiento en posición meta al protón 7-H_Q, cuya señal aparece en el espectro con un corrimiento de 7.14 ppm (d, $J = 8.4$ Hz).

Finalmente, en la región de campo bajo se encuentra la señal de los protones metilénicos del carbono enlazado directamente al átomo de oxígeno en un corrimiento de 4.98 ppm y una constante de acoplamiento con el protón metínico del alquino terminal de 2.4 Hz que confirman la introducción del grupo propargilo al anillo quinolínico.

Los desplazamientos químicos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de los protones en los espectros ¹H-RMN de los análogos hidroxiquinolínicos *O*-propargilados se presentan en la Tabla 6.

Figura 42.

Espectro 1H-RMN de 5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (IVc).



Tabla 6.

Señales características de los protones de los derivados O-propargilados IVa-g.

Comp.	Señales ¹ H-RMN [δ (ppm), multiplicidad, y J (Hz)]											
	2-H _Q	4-H _Q	3-H _Q	6-H _Q	5-H _Q	7-H _Q	1'-CH ₂	3'-CH	2''-Ha	3''-Hb	3''-Ha	1''-CH ₂ alil
IVa	8.44, dd, J = 4.1, 1.6	8.09, dd, J = 8.3, 1.6	7.21 – 7.19 m		7.17, dd, J = 8.5, 4.2	6.85 m	4.93, d, J = 2.4	2.47, t, J = 2.4				
IVb	(2-CH ₃) 2.67, m	7.89, d, J = 8.4 Hz	7.18, d, J = 8.4	7.27 – 7.29, m		7.13, dd, J = 5.7, 3.3	4.91, d, J = 2.4	2.41, t, J = 2.4				
IVc	8.94, dd, J = 4.2, 1.7	8.48, dd, J = 8.6, 1.7	7.51, t, J = 2.1	7.49, t, J = 2.0	-	7.14, d, J = 8.4	4.98, d, J = 2.4	2.51, t, J = 2.4				
IVd	9.05, dd, J = 4.2, 1.6	8.55, dd, J = 8.6, 1.6	7.75, dd, J = 8.6, 4.2	7.96, s	-x	-	5.26, d, J = 2.5	3.51, t, J = 2.5				
IVe	8.58, dd, J = 4.2, 1.5	8.09, dd, J = 8.3, 1.5	7.40 – 7.36 m		7.20, d, J = 8.4	-	4.93, d, J = 2.4	2.47, t, J = 2.4	6.10, ddt, J = 16.6, 10.0, 6.5	5.28 – 5.19 m		3.66, d, J = 6.5 Hz
IVf	(2-CH ₃) 2.59 s	7.74, d, J = 8.3	7.06, d, J = 7.7	6.93 m		-	-	2.41, t, J = 2.4	5.79, ddt, J = 17.2, 10.5, 5.2	5.49, dq, J = 17.3, 1.6	5.01, dd, J = 10.5, 1.6	4.14, d, J = 5.3
IVg	8.74, dd, J = 4.2, 1.6	8.34, dd, J = 8.5, 1.6	7.42, dd, J = 8.5, 4.2	7.38, s	-	-	4.91, d, J = 2.4	2.45, t, J = 2.5	5.83, ddt, J = 17.2, 10.5, 5.2	5.23-5-27 m		4.21, d, J = 5.2

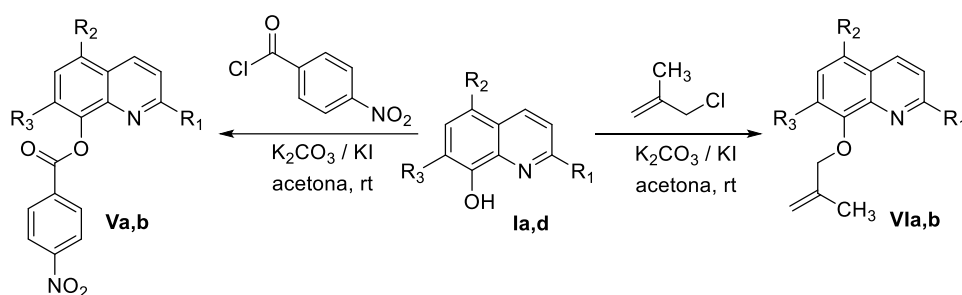
En resumen, se obtuvieron siete derivados *O*-propargilados, precursores indispensables para la síntesis de híbridos hidroxiquinolín-azoles a través de reacción de cicloadiciones 1,3-dipolar que se discute más adelante.

2.4.1.4 Síntesis de derivados con cloruro de 4-nitrobenzoilo y cloruro de metalilo

Buscando generar un rango más amplio de derivados del núcleo 8-hidroxiquinolínico se sintetizaron cuatro derivados adicionales: dos a partir de la sustitución con cloruro de 4-nitrobenzoilo y dos con cloruro de metalilo como se muestra en la figura 43.

Figura 43.

Obtención de derivados a partir de cloruro de 4-nitrobenzoilo y cloruro de metalilo



Se emplearon las mismas condiciones de las reacciones de sustitución nucleofílica manejadas en las de las etapas anteriores (carbonato de potasio, yoduro de potasio y acetona como disolvente, figura 43). En la Tabla 7 se observan las propiedades físicas de los compuestos sintetizados que fueron obtenidos con rendimientos aceptables superiores a 67%.

Tabla 7.*Rendimientos y propiedades físicas de los compuestos V y VI.*

Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	Rto (%)	Fórmula condensada	Aspecto físico	Punto de fusión (°C)
Va	H	H	H	67	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ O ₄	Sólido amarillo	102 – 103
Vb	H	Cl	H	72	C ₁₆ H ₉ ClN ₂ O ₄	Sólido amarillo	126 - 128
VIa	H	H	H	76	C ₁₃ H ₁₃ NO	Sólido beige	97 - 98
VIb	CH ₃	H	H	83	C ₁₄ H ₁₅ NO	Aceite amarillo	-

Las estructuras de los productos sintetizados fueron confirmadas por experimentos de resonancia magnética nuclear y los espectros de un ejemplo de cada uno de ellos se pueden observar en las figuras 44 y 45. En cada uno de ellos se presentan el grupo de señales, desplazamientos y los desdoblamientos, así como su correspondiente asignación de cada uno de los protones esperados para los productos sintetizados.

Figura 44.

Espectro 1H-RMN de 2-metil-8-((2-metilalil)oxi)quinolina (VIb).

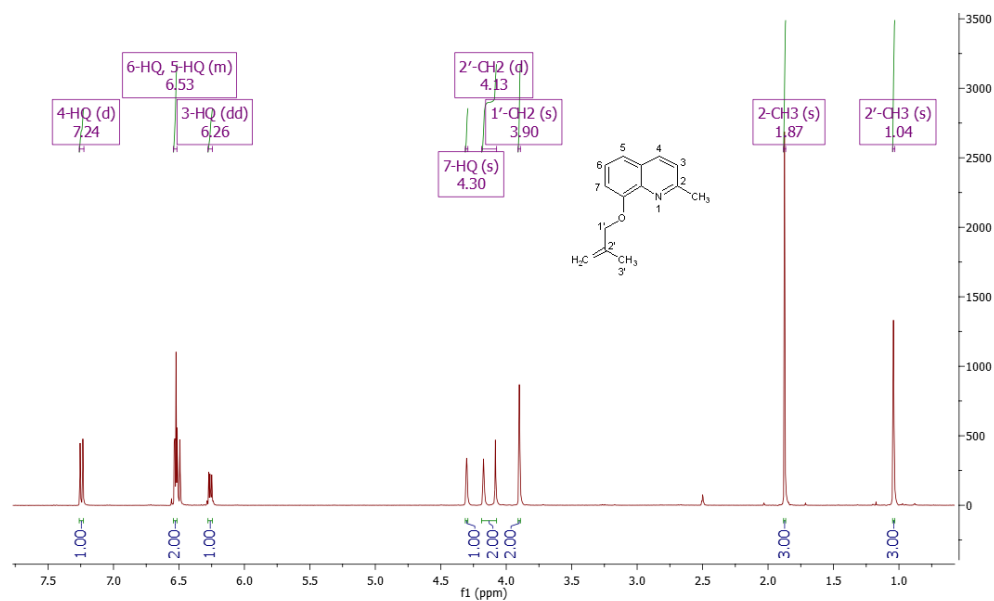
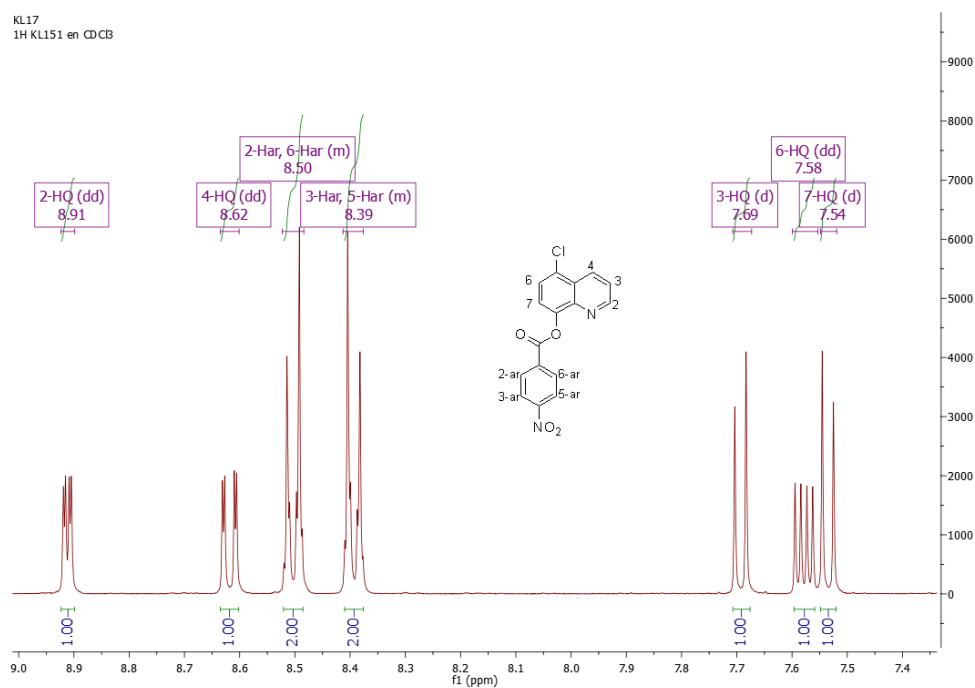


Figura 45.

Espectro 1H-RMN de 5-cloroquinolin-8-il 4-nitrobenzoato (Vb).



2.4.2 Etapa B. Síntesis de híbridos triazol-hidroxiquinolinas, TA-HQus

Una vez obtenidos los derivados diversificados del anillo 8-hidroxiquinolinico de los cuales los derivados propargilados se emplean como precursores en la síntesis de híbridos, se procedió a sintetizar siete aril(bencil) azidas **VIIa-d** y **VIIIa-c** a partir de anilinas empleando nitrito de sodio con ácido clorhídrico concentrado y azida de sodio (Figura 46) o cloruro de bencilo en DMF y azida de sodio (Figura 47) según fue el caso (Irfan *et al.*, 2015).

Figura 46.

Esquema general de síntesis de azidas VII a-d a partir de análogos de anilinas.

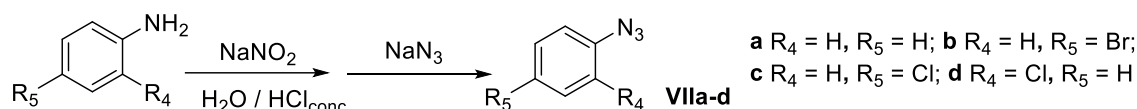
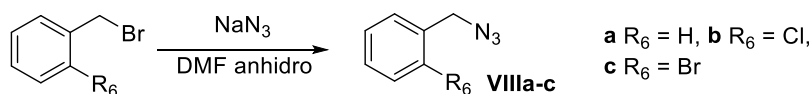


Figura 47.

Esquema general de síntesis de azidas VIIIa-c a partir de análogos de bromuro de bencilo.



En todos los casos, se obtuvieron productos como aceites amarillentos traslúcidos con porcentajes de rendimiento entre 77-92% que fueron empleados en las reacciones de cicloadición posteriores sin previa purificación.

El acceso a los híbridos moleculares que posean el núcleo quinolínico junto al anillo 1,2,3-triazol se da gracias a un concepto acuñado en el año 2001 por el profesor Sharpless y colaboradores (Kolb *et al.*, 2001) para la cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos en su versión catalizada por cobre (I) CuAAc, que establece una metodología efectiva y versátil en la síntesis orgánica para la construcción de un sinnúmero de moléculas diferentes que incluyan dentro de su esqueleto el anillo triazólico.

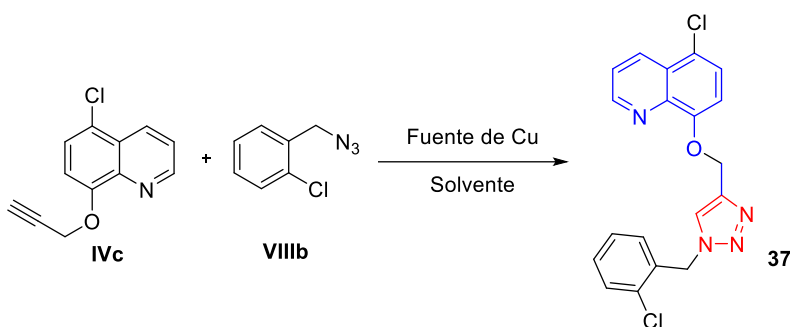
Con el propósito de encontrar las mejores condiciones de trabajo y lograr los mejores rendimientos posibles para la preparación de los derivados TA-HQus se tomó como modelo la reacción entre 5-cloro-8-(prop-2-in-1-iloxi)quinolina (**IVc**) y 1-(azidometil)-2-clorobenceno (**VIIIb**) que se muestra en la figura 48 y se realizaron cinco experimentos.

La Tabla 8 muestra los detalles de cada experimento donde se toma como variables: mezcla solvente, fuente de cobre y el aditivo con sustancias que hayan sido previamente reportadas en reacciones de cicloadición 1,3-dipolar.

Como fuentes de cobre se emplearon el sulfato de cobre pentahidratado y el yoduro de cobre por ser las sales de cobre que evidencian mejores rendimientos, como disolventes se emplearon las mezclas: *tert*-BuOH-H₂O, CH₂Cl₂-H₂O, DMF-EtOH y THF/H₂O, y como aditivo se ensayaron ascorbato de sodio y trietilamina.

Figura 48.

Esquema de reacción modelo para estudio de condiciones de reacción click-chemistry

**Tabla 8.**

Experimentos para el estudio de condiciones de reacción click chemistry.

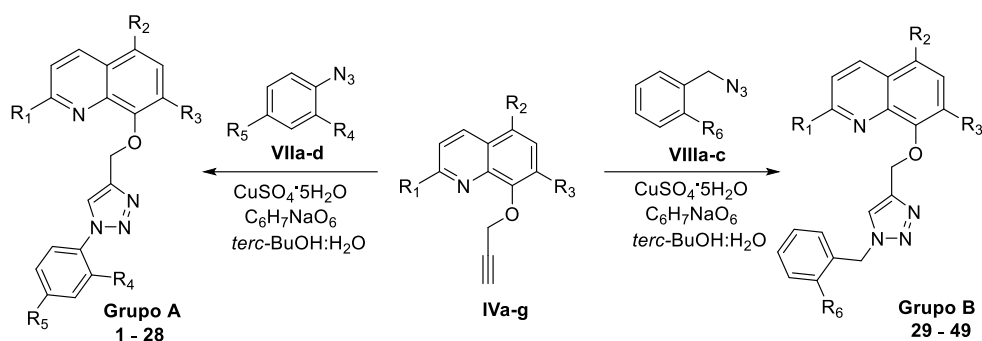
Exp.	Fuente de Cu	Disolvente	Aditivo	Rto (%)	Ref.
1	CuI	<i>t</i> -BuOH-H ₂ O	-	36	(Singh, 2016)
2	CuSO ₄ ·5H ₂ O	<i>t</i> -BuOH-H ₂ O (1:1)	NaAsc	63-69	(Manohar, 2011)
3	CuSO ₄ ·5H ₂ O	<i>t</i> -BuOH-H ₂ O (1:2)	NaAsc	80-86	(Irfan et al., 2015)
4	CuSO ₄ ·5H ₂ O	CH ₂ Cl ₂ -H ₂ O	NaAsc	-	(De O Freitas et al., 2014)
5	CuSO ₄ ·5H ₂ O	THF/H ₂ O (1:1)	-	54-55	(Karthik Kumar, 2011)
6	CuSO ₄ ·5H ₂ O	THF/H ₂ O (9:1)	NaAsc	-	(Shirame, 2014)
7	CuI	DMF-EtOH	Et ₃ N	35-40	(Hassan & Müller, 2015)
8	CuI	THF/H ₂ O (1:1)	Et ₃ N	-	(Thomas et al., 2010)

Aunque el empleo de algunas de las condiciones probadas como las que se muestran en el experimento 7: yoduro de cobre y trietilamina, condujo a la obtención del producto esperado, el experimento que permitió alcanzar más eficientemente el producto de la

cicloaddición fue el que empleo el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, la mezcla *tert*-BuOH- H_2O (1:2) y ascorbato de sodio como aditivo con un porcentaje de rendimiento de 80-86%, por lo que se decidió emplear estas condiciones para el resto de proceso de síntesis tanto de derivados del grupo A como del grupo B como se muestra en el figura 49.

Figura 49.

Esquema de general de síntesis de híbridos TA-HQus conjugados del Grupo A y B.



El resumen de los compuestos sintetizados, sus propiedades físicas y los porcentajes de rendimiento se presentan en la Tabla 9. Todos los híbridos se obtuvieron como sólidos con puntos de fusión definidos con porcentaje de rendimientos de reacción entre 66-94%.

Tabla 9. Rendimientos y propiedades físicas de los híbridos TA-HQus 1-49.

Comp.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Rto (%)	Fórmula condensada	Aspecto físico	Punto de fusión (°C)
1	H	H	H	H	H	-	87	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O	Sólido blanco	102 - 103
2	H	Cl	H	H	H	-	66	C ₁₈ H ₁₃ ClN ₄ O	Sólido blanco	115 - 117
3	H	Cl	Cl	H	H	-	92	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O	Sólido beige	107 - 109

4	H	Cl	Alilo	H	H	-	68	C ₂₁ H ₁₇ ClN ₄ O	Sólido beige	144 - 146
5	CH ₃	H	H	H	H	-	80	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O	Sólido blanco	120 - 122
6	H	H	Alilo	H	H	-	86	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O	Sólido amarillento	92 - 93
7	CH ₃	H	Alilo	H	H	-	94	C ₂₂ H ₂₀ N ₄ O	Sólido beige	135 - 136
8	H	H	H	H	Br	-	82	C ₁₈ H ₁₃ BrN ₄ O	Sólido blanco	89 - 90
9	H	Cl	H	H	Br	-	90	C ₁₈ H ₁₂ BrClN ₄ O	Sólido beige	94 - 95
10	H	Cl	Cl	H	Br	-	85	C ₁₈ H ₁₁ BrCl ₂ N ₄ O	Sólido blanco	128 - 129
11	H	Cl	Alilo	H	Br	-	89	C ₂₁ H ₁₆ BrClN ₄ O	Sólido amarillo claro	147 - 148
12	CH ₃	H	H	H	Br	-	80	C ₁₉ H ₁₅ BrN ₄ O	Sólido blanco	135 - 136
13	H	H	Alilo	H	Br	-	76	C ₂₁ H ₁₇ BrN ₄ O	Sólido blanco	114 - 115
14	CH ₃	H	Alilo	H	Br	-	87	C ₂₂ H ₁₉ BrN ₄ O	Sólido blanco	153 - 154
15	H	H	H	H	Cl	-	91	C ₁₈ H ₁₃ ClN ₄ O	Sólido blanco	104 - 105
16	H	Cl	H	H	Cl	-	87	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O	Sólido blanco	110 - 111
17	H	Cl	Cl	H	Cl	-	92	C ₁₈ H ₁₁ Cl ₃ N ₄ O	Sólido beige	134 - 135
18	H	Cl	Alilo	H	Cl	-	81	C ₂₁ H ₁₆ Cl ₂ N ₄ O	Sólido beige	146 - 147
19	CH ₃	H	H	H	Cl	-	83	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄ O	Sólido blanco	89 - 90
20	H	H	Alilo	H	Cl	-	86	C ₂₁ H ₁₇ ClN ₄ O	Sólido beige	162 - 163
21	CH ₃	H	Alilo	H	Cl	-	89	C ₂₂ H ₁₉ ClN ₄ O	Sólido blanco	175 - 176
22	H	H	H	Cl	H	-	85	C ₁₈ H ₁₃ ClN ₄ O	Sólido blanco	87 - 88
23	H	Cl	H	Cl	H	-	92	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O	Sólido blanco	106 - 107
24	H	Cl	Cl	Cl	H	-	86	C ₁₈ H ₁₁ Cl ₃ N ₄ O	Sólido blanco	163 - 164
25	H	Cl	Alilo	Cl	H	-	82	C ₂₁ H ₁₆ Cl ₂ N ₄ O	Sólido beige	132 - 133
26	CH ₃	H	H	Cl	H	-	85	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄ O	Sólido blanco	104 - 015
27	H	H	Alilo	Cl	H	-	83	C ₂₁ H ₁₇ ClN ₄ O	Sólido beige	145 - 146
28	CH ₃	H	Alilo	Cl	H	-	90	C ₂₂ H ₁₉ ClN ₄ O	Sólido blanco	126 - 127
29	H	H	H	-	-	H	90	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O	Sólido blanco	87 - 88

30	H	Cl	H	-	-	H	85	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄ O	Sólido blanco	107 - 108
31	H	Cl	Cl	-	-	H	75	C ₁₉ H ₁₄ Cl ₂ N ₄ O	Sólido beige	146 - 147
32	H	Cl	Alilo	-	-	H	62	C ₂₂ H ₁₉ ClN ₄ O	Sólido beige	101 - 102
33	CH ₃	H	H	-	-	H	83	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O	Sólido blanco	153 - 154
34	H	H	Alilo	-	-	H	77	C ₂₂ H ₂₀ N ₄ O	Sólido blanco	167 - 168
35	CH ₃	H	Alilo	-	-	H	81	C ₂₃ H ₂₂ N ₄ O	Sólido blanco	113 - 114
36	H	H	H	-	-	Cl	78	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄ O	Sólido beige	95 - 96
37	H	Cl	H	-	-	Cl	86	C ₁₉ H ₁₄ Cl ₂ N ₄ O	Sólido blanco	102 - 103
38	H	Cl	Cl	-	-	Cl	74	C ₁₉ H ₁₃ Cl ₃ N ₄ O	Sólido blanco	124 - 125
39	H	Cl	Alilo	-	-	Cl	88	C ₁₉ H ₁₃ Cl ₃ N ₄ O	Sólido beige	138 - 139
40	CH ₃	H	H	-	-	Cl	87	C ₂₀ H ₁₇ ClN ₄ O	Sólido blanco	114 - 115
41	H	H	Alilo	-	-	Cl	75	C ₂₂ H ₁₉ ClN ₄ O	Sólido beige	122 - 123
42	CH ₃	H	Alilo	-	-	Cl	83	C ₂₃ H ₂₁ ClN ₄ O	Sólido beige	165 - 166
43	H	H	H	-	-	Br	76	C ₁₉ H ₁₅ BrN ₄ O	Sólido blanco	84 - 85
44	H	Cl	H	-	-	Br	71	C ₁₉ H ₁₄ BrClN ₄ O	Sólido blanco	133 - 134
45	H	Cl	Cl	-	-	Br	72	C ₁₉ H ₁₃ BrCl ₂ N ₄ O	Sólido blanco	151 - 152
46	H	Cl	Alilo	-	-	Br	71	C ₂₂ H ₁₈ BrClN ₄ O	Sólido blanco	177 - 178
47	CH ₃	H	H	-	-	Br	77	C ₂₀ H ₁₇ BrN ₄ O	Sólido blanco	144 - 145
48	H	H	Alilo	-	-	Br	72	C ₂₂ H ₁₉ BrN ₄ O	Sólido beige	174 - 175
49	CH ₃	H	Alilo	-	-	Br	81	C ₂₃ H ₂₁ BrN ₄ O	Sólido blanco	164 - 165

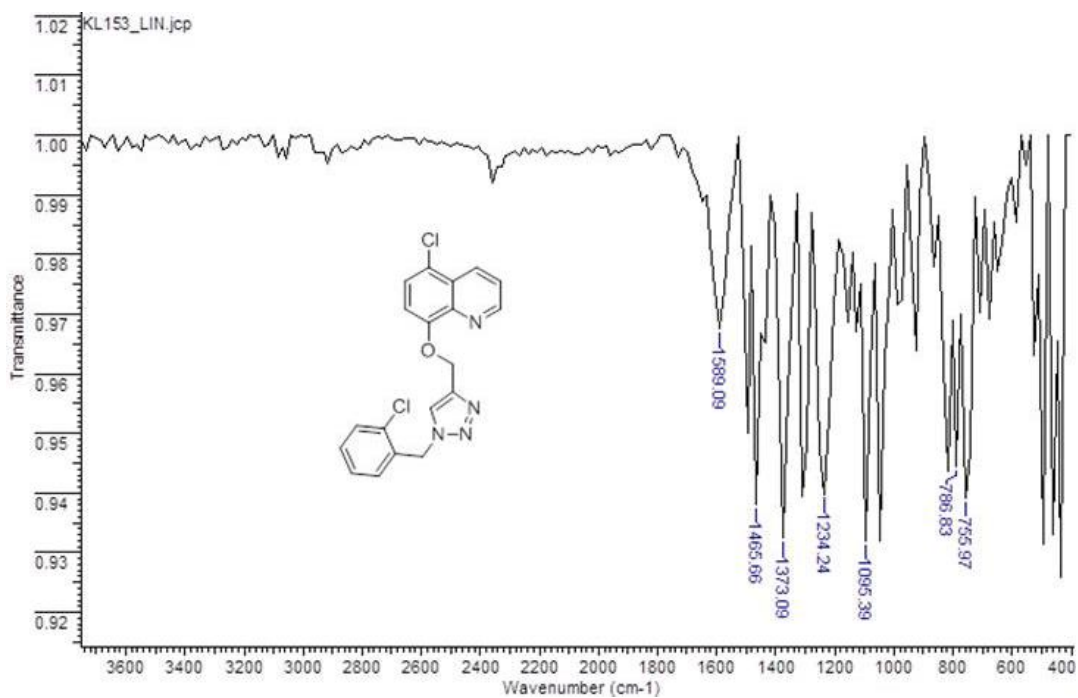
La elucidación estructural de los híbridos fue realizada con datos espectroscópicos y los resultados tomando como ejemplo el compuesto **37** se discuten a continuación.

El espectro infrarrojo muestra reciprocidad entre las bandas de absorción presentes y los grupos funcionales de la molécula. Las características que dan un primer indicio de la formación del producto de cicloadición es la desaparición de las bandas de tensión y flexión

propias del grupo alquino que se estudiaron para la reacción de propargilación y la aparición de la banda de tensión del enlace Ar-N-R en 1373 cm^{-1} y 1234 cm^{-1} (figura 50).

Figura 50.

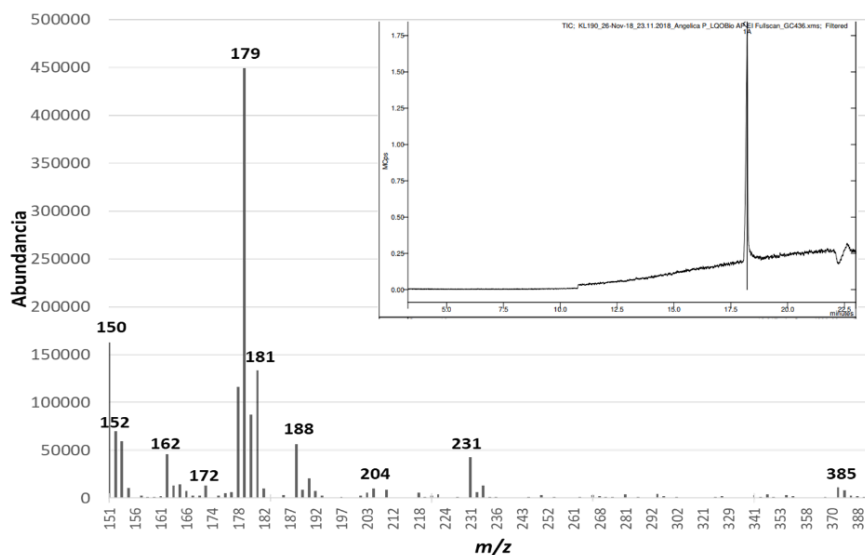
Espectro IR del híbrido 5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37)



La determinación de la masa molecular de los híbridos se realizó por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (figura 51). La triazol-quinolina **37** presentó un ion molecular con baja intensidad con m/z de 385 coincidente con la masa esperada para el híbrido sintetizado. Su ion pico de base presentó una relación m/z de 179 correspondiente al fragmento quinolínico y la ruptura por el enlace O-CH₂ del anillo triazólico.

Figura 51.

Espectro CG-EM del híbrido 5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37)



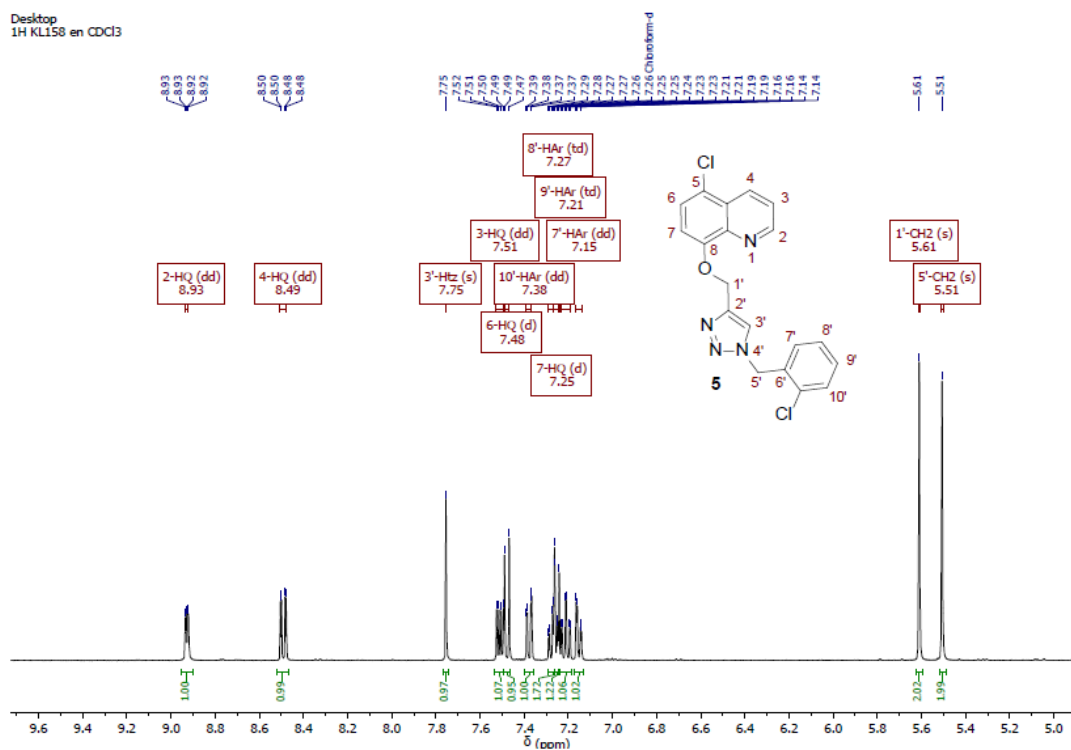
Al igual que en los casos anteriores, la estructura del híbrido quinolin-azol se confirmó mediante resonancia magnética nuclear. El espectro de la molécula se muestra en la figura 52. En la vista completa del espectro de resonancia se distinguen claramente dos grandes zonas: en campos altos la zona de protones alifáticos donde se encuentra que el hidrógeno bencílico del grupo O-CH₂-Triazol produjo una señal a 5.63 ppm, así como el singulete de hidrógeno bencílico del fragmento N-CH₂-Ar que resonó a 5.53 ppm.

Hacia campo bajo se encuentran las señales asignadas para los protones de los tres anillos aromáticos del compuesto híbrido. En esta zona es importante mencionar la característica principal que se espera en la formación de este tipo de híbridos y es el protón metilénico del anillo de triazol que por encontrarse en un heterociclo con átomos de nitrógeno

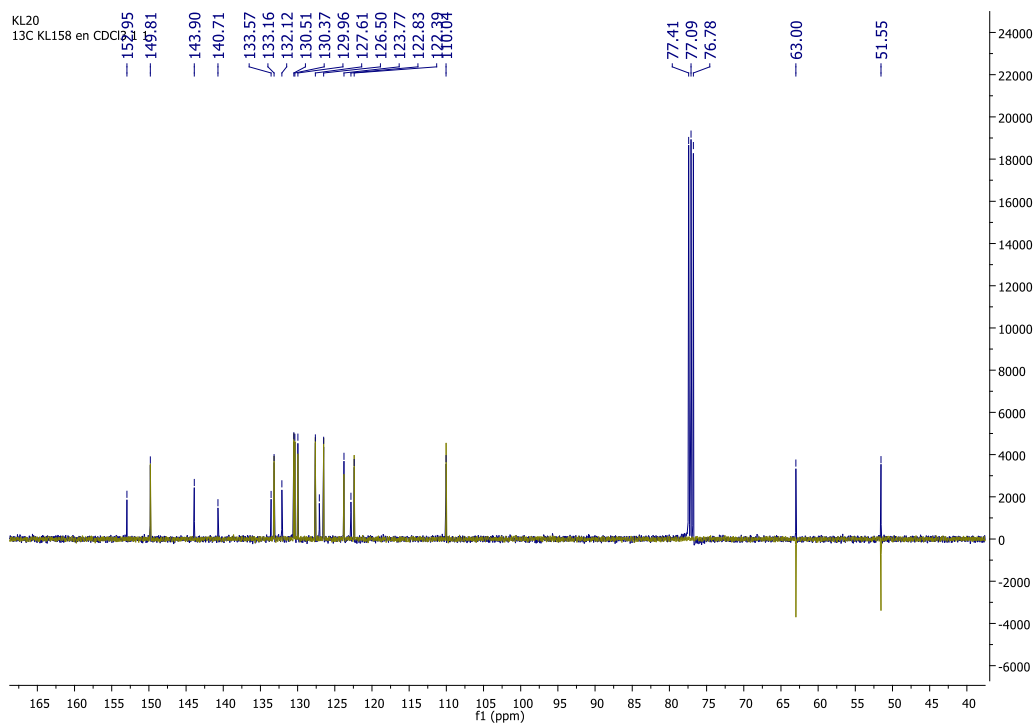
enlazados promueven un corrimiento de esta señal desde la zona de protones olefínicos hacia la zona aromática situándola a 7.75 ppm como un singlete (s, 1H) indicando su naturaleza 1,4-regioisomérica.

Figura 52.

Espectro 1H-RMN del híbrido 5-cloro-8-((1-(2-clorobencil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)quinolina (37)



En el espectro de ^{13}C -NMR (Figura 53), las señales más representativas fueron los carbonatos de metileno a 51.6 y 63.1 ppm, correspondientes a los sistemas N-CH₂-Ar y O-CH₂-Triazol, respectivamente.

Figura 53.*Espectro de ^{13}C y DEPT-135 superpuesto del híbrido 37*

2.5 Conclusiones del capítulo 2

Se emplearon exitosamente diferentes reacciones de sustitución sobre el átomo de oxígeno de cuatro 8-hidroxiquinolinas comerciales para la obtención de 21 derivados sintéticos que permitieron la diversificación del anillo para reacciones de etapas posteriores.

Se evaluaron diferentes condiciones para la reacción 1,3-dipolar azida-alquino catalizada por átomos de cobre (CuAAC), encontrando que el uso de sulfato de cobre

pentahidratado, ascorbato de sodio y la mezcla solvente *tert*-butanol: agua (1:2) como aquellas que arrojaron los mejores porcentajes de rendimiento para la obtención de 49 híbridos triazol-hidroxiquinolinas.

La completa caracterización de los productos obtenidos empleando técnicas espectroscópicas y espectrométricas como IR, CG-MS y ^1H -RMN, ^{13}C -RMN demostró la obtención inequívoca de los productos diseñados tanto para la diversificación del anillo 8-hidroxiquinolínico como para los híbridos TA-HQus.

3. Evaluación de actividad antifúngica de nuevos híbridos triazol- hidroxiquinolinas

3.1 Importancia de la búsqueda de actividad antifúngica

El desarrollo de nuevas entidades moleculares que presenten actividad biológica ha constituido, dentro de la química orgánica, una de las líneas de investigación con mayor impacto socioeconómico, por lo que resulta prioritario el fomento de los estudios en este campo. En la actualidad, sigue existiendo un interés creciente en el diseño y síntesis de nuevas moléculas que presenten potencial actividad antifúngica, debido principalmente a dos factores: primero, el aumento de la población susceptible de infecciones causadas por hongos junto con a la incapacidad de tratarlas eficazmente con terapias existentes debido a sus múltiples efectos adversos; segundo, el crecimiento de plagas oportunistas que atacan los principales cultivos económicos de la sociedad responsables de importantes pérdidas económicas que surgen principalmente de la reducción del rendimiento de los cultivos.

El objetivo general del presente capítulo fue estudiar la actividad antifúngica de los diferentes híbridos TA-HQus sintetizados. En una primera etapa se evaluaron todo el panel de sustancias frente a cepas de hongos susceptibles a diferentes compuestos, a fin de obtener las estructuras más activas y poder dar un primer acercamiento al establecimiento de su relación estructura-actividad. Una vez se determinaron las estructuras más activas, éstas fueron evaluadas frente a diferentes cepas de hongos fitopatógenos con el fin de establecer

las características estructurales mínimas necesarias para que estos compuestos posean actividad antifúngica que ayuden en el campo de la agroquímica y, en base a estos datos, proponer nuevas estructuras para ser sintetizadas.

3.2 Generalidades: Actividad Antifúngica

El estudio de la actividad antifúngica consiste en la determinación de la capacidad que tenga una sustancia (o una combinación de más de sustancia) de inhibir o detener el crecimiento de distintas cepas fúngicas de forma cualitativa y/o cuantitativa dependiendo del tipo de hongo o de la necesidad del ensayo.

Para el estudio de la actividad antifúngica se han empleado a lo largo de la historia diferentes métodos. En un primer momento se establece un esquema de ensayos comenzando con aquel que posea gran capacidad, de modo de realizar un *screening* de todos los compuestos objetivo en un tiempo breve (*ensayos de primer orden*). De esta forma se descartan los compuestos no activos y se continúan con aquellos que posean actividad. Estos se someten a *ensayos de segundo orden* en los que se confirma la actividad observada en el primer ensayo determinando el modo de acción de la sustancia evaluada (Hostettmann y col., 2001). Para el desarrollo de los ensayos de segundo orden se consideran dianas específicas de la pared fúngica o membrana celular, así como un *pool* de enzimas específicas; así por ejemplo se tienen ensayos como: ensayo de sorbitol, ensayo de unión a ergosterol, ensayo de *Neurospora crassa*, entre otros.

Ensayos de primer orden

Entre los métodos útiles para evaluar actividad antifúngica en una primera instancia, se encuentran los bioensayos a célula entera como los siguientes (Ball & Finkelstein, 1992):

- Ensayos de difusión
- Ensayos en fase volátil
- Ensayos autobiográficos
- Ensayos de dilución

Aunque cada uno de los métodos anteriormente mencionados tiene sus correspondientes características, para los objetivos del presente trabajo se muestran los detalles del método de dilución ya que por su capacidad de cuantificación (mostrando su principal ventaja en la capacidad de determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de cada compuesto evaluado) y la oportunidad de probar varios compuestos al mismo tiempo lo postulan como el método más útil al momento de testear los compuestos sintetizados.

Métodos de dilución

Es una técnica cuantitativa en la cual soluciones de diferentes concentraciones de un compuesto, mezcladas homogéneamente con el medio de cultivo (o crecimiento), se enfrentan con un volumen constante del inóculo del hongo a probar. Permite determinar la menor concentración a la que se inhibe el desarrollo fúngico, es decir la CIM como se observa

en la figura 54, en donde a manera de ejemplo se muestran los resultados de la evaluación de actividad antifúngica de cuatro compuestos frente a un mismo hongo. El ensayo puede extenderse para proveer información sobre la CFM si aplica para el compuesto, que se define como la mínima concentración de extracto o compuesto que provoca la muerte del hongo (figura 55) (Zacchino, Sortino, & Derita, 2011).

Las especies fúngicas elegidas para conformar el panel de hongos dependerá del propósito de la investigación: puede utilizarse un panel de hongos patogénicos u oportunistas para el humano, una sola especie fúngica, hongos fitopatogénicos, etc.

Para su realización existen metodologías estandarizadas puesto que, el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio [Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)] ha elaborado varios documentos con los lineamientos para la determinación de la actividad antifúngica para levaduras M27-A3 (CLSI, 2008a) y para hongos filamentosos M38-A2 (CLSI, 2008b) con el método de dilución en caldo. Estos documentos se desarrollaron a través de un proceso de consenso, analizando todas las variables que afectaban al método y estableciendo los procedimientos adecuados para mejorar la exactitud y reproducibilidad de los resultados. Mediante esta técnica también se pueden determinar las concentraciones de sustancia(s) que inhibe el crecimiento fúngico en menores porcentajes, por ej., el 80% (CIM₈₀) o el 50% (CIM₅₀) si el tipo de lectura es espectrofotométrica.

Figura 54.

Representación esquemática de la metodología para la determinación de CIM por el método de microdilución en caldo

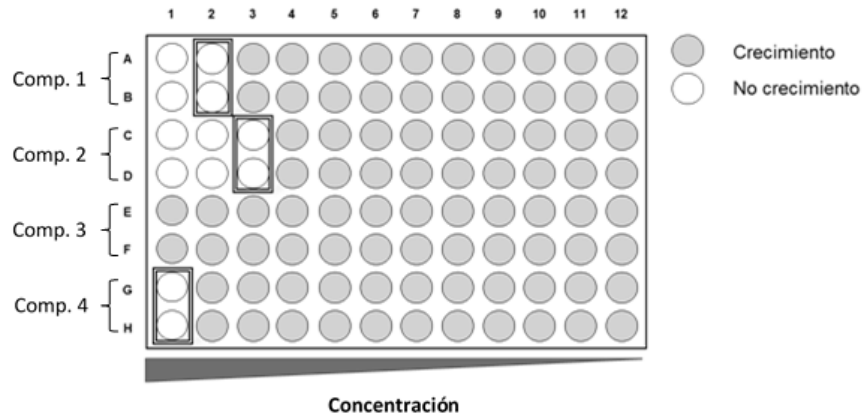
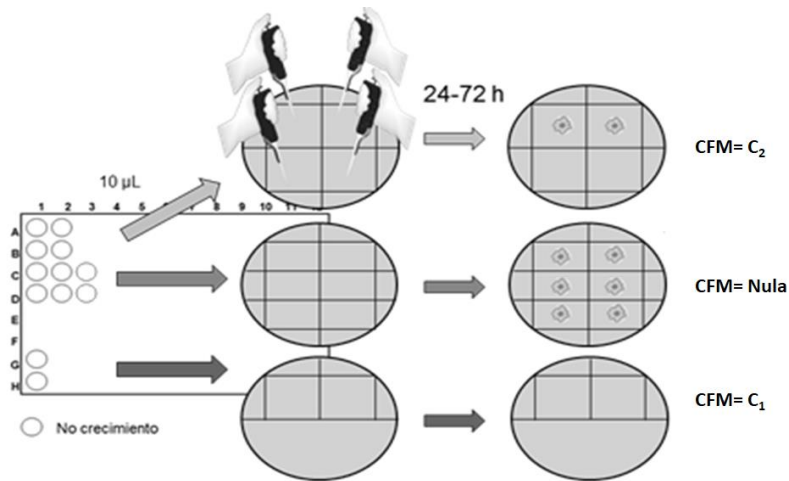


Figura 55.

Metodología para determinar la CFM de compuestos puros



Los ensayos de actividad antifúngica fueron realizados durante la pasantía doctoral en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario en Rosario – Argentina, bajo la dirección del Dr. Maximiliano Sortino y la Dra. Susana Zacchino con una duración de 24 semanas y trabajo de 40 horas semanales.

Durante el periodo de la pasantía se cumplieron los siguientes objetivos:

1. Entrenamiento en los métodos de determinación de actividad antifúngica de compuestos puros siguiendo protocolos internacionales estandarizados del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

2. Determinación de la actividad antifúngica de los compuestos híbridos hidroxiquinolin-azoles sintetizados previamente frente a cepas de hongos patógenas tanto para humanos como para plantas.

Para alcanzar los objetivos propuestos se realizaron las siguientes actividades generales: Selección del hongo prueba, preparación y cuantificación del inóculo, preparación de medios de cultivo, uso de diferentes tiempos de incubación, compuestos testigo, determinación de la CIM, CFM y determinación espectrofotométrica del porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico en relación al crecimiento normal del hongo (entrenamiento en la construcción de curvas dosis-respuesta (‘concentración’ vs ‘% de inhibición’) con el software Sigmaplot 11.0. A continuación se detalla el modo de determinación de la actividad antifúngica y los resultados obtenidos.

3.3 Materiales y métodos

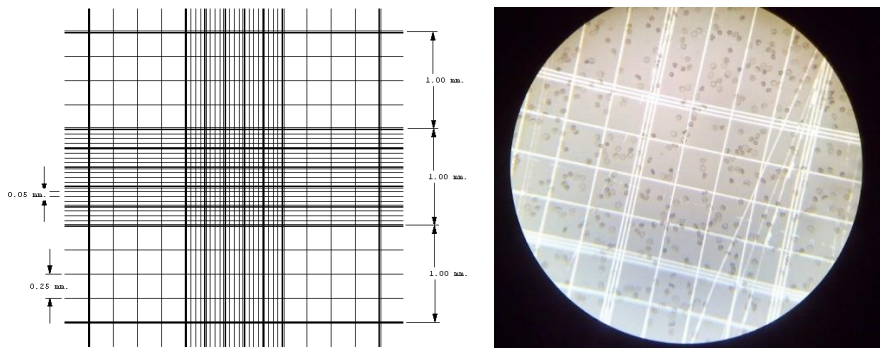
3.3.1 *Microorganismos: preparación del inóculo*

Los microorganismos usados fueron aislados clínicos provenientes del Centro de Referencia de Micología (CEREMIC, UNR, Rosario, Argentina) y cepas estandarizadas de la *American Type Culture Collection* (ATCC, Manassas, VA, EEUU). Las cepas fueron mantenidas sobre medio de cultivo agar Sabouraud (ASG) y conservadas en tubos bajo capa de vaselina a temperatura ambiente. Para la preparación y cuantificación del inóculo se utilizaron estructuras del hongo discretas (células para hongos levaduriformes y conidios generados por reproducción asexual, para hongos filamentosos).

a) Hongos levaduriformes: Para la realización de los inóculos de levaduras se sembraron los hongos en ASG en cajas Petri descartables de 10 mm de diámetro. En cada caja Petri se colocaron 15 mL de medio de cultivo y cada especie de hongo se sembró con ayuda de un ansa. Se incubaron a 28 °C por 24 h o 48 h y en cada caso, se tomó una colonia con la que se realizó una suspensión en solución fisiológica estéril. Se contaron las levaduras en cámara de Neubauer (figura 56) y se realizaron las diluciones necesarias para obtener suspensiones con una concentración de $1-5 \times 10^3$ levaduras/mL (M27-A3 CLSI, 2008a).

Figura 56.

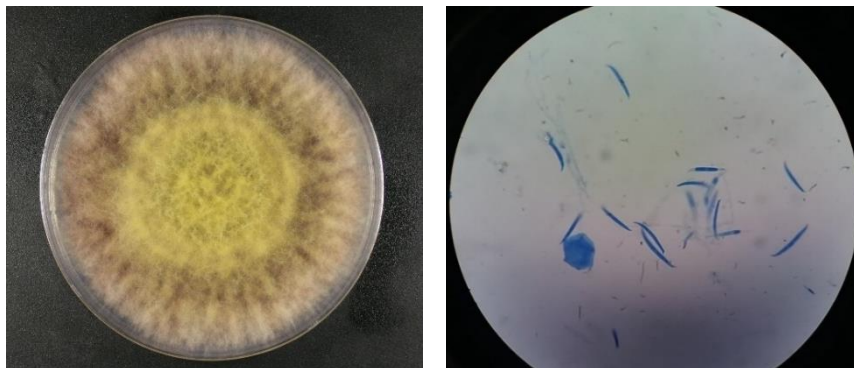
Cámara de Neubauer (a la izquierda está el retículo de Thoma de la cámara, a la .derecha una foto de cómo se ven al microscopio)



b) Hongos filamentosos: Como inóculo de hongos filamentosos se utilizaron suspensiones de conidios. Los hongos se sembraron en medio Agar Papa Dextrosa (APD) (y medio de cultivo Spezieller Nährstoffarmer (SNA)), para estimular la conidiación y se sigue el mismo procedimiento descrito para las levaduras. Los hongos filamentosos fueron incubados a 28 °C de 3 a 10 días, según los requerimientos de cada especie. Las colonias se cubrieron con solución fisiológica estéril y se rasparon para obtener una suspensión densa, que fue transferida a un tubo estéril. Se dejó reposar esta suspensión por 5 a 7 min para permitir que sedimenten los fragmentos más pesados y se separó la fracción superior. Esta fracción se homogeneizó, se contaron los conidios en cámara de Neubauer y se realizó la dilución necesaria para obtener una concentración de $1-5 \times 10^4$ conidios/ml (M38-A2 - CLSI, 2008b).

Figura 57.

a. Foto de la colonia pura de *F. graminearum*; b. Unidades formadoras de colonia género *Fusarium*: conidios.



a.

b.

c) **Soporte, medios de cultivo y soluciones de los compuestos:** Medio de cultivo RPMI-1640 (con glutamina, sin bicarbonato y con rojo fenol como indicador de pH), tamponado a $\text{pH } 7,0 \pm 0,1$ con MOPS [ácido 3-(*N*-morfolino propano) sulfónico] (Sigma-Aldrich) a una concentración final de 0,165 M y con el agregado de glucosa a una concentración final de 10% P/V. Estas soluciones fueron esterilizadas por filtración utilizando filtro de $0,45 \mu\text{m}$ y almacenadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ (E.DEF 7.3.1 (EUCAST), 2017). Medio de cultivo Spezieller Nährstoffarmer (SNA): medio sintético, pobre de nutrientes empleado para la identificación y obtención de conidios de especies *Fusarium*. Este medio se preparó agregando 1 g de KH_2PO_4 , 1 g de KNO_3 , 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g de KCl, 0,2 g de glucosa, 0,2 g de sucrosa, 20 g de agar en un litro de agua destilada y esterilizado en autoclave (Leslie & Summerell, 2006).

Se utilizaron microplacas estériles de 96 pocillos con tapa y fondo plano (Greiner Bio One, Wemmel, Bélgica). Se realizaron soluciones madre de los compuestos puros a 12,5

mg/mL en DMSO (Anedra, Buenos Aires, Argentina), y conservadas a 4 °C. Se prepararon diluciones sucesivas al medio de los compuestos en RPMI-1640 para obtener concentraciones finales en el rango 250-0,39 µg/mL. Se colocaron 100 µL de estas soluciones en las microplacas.

3.3.2 Determinación de la CIM

Las microplacas se llenaron colocando en cada pocillo 100 µL de la suspensión de inóculo junto con los 100 µL de las soluciones de compuesto. Se utilizaron como controles positivos anfotericina B (Amp) y fluconazol (Fcz). Adicionalmente, se emplearon dos fungicidas de tipo imidazol, carbendazim e imazalil, comúnmente empleados en varios cultivos, como controles positivos en los ensayos de evaluación contra las cepas *Fusarium* (Tabla 10).

CLSI recomienda, como control de calidad del método, la evaluación de la susceptibilidad antifúngica de cepas de referencia (*Candida parapsilosis* ATCC 22019, y *C. krusei* ATCC 6258) frente a antifúngicos comerciales donde se deben observar CIMs dentro del rango especificado. Al mismo tiempo se realizaron diversos controles necesarios para asegurar la veracidad de los resultados: Control de inóculo donde se garantiza el crecimiento del hongo a partir del inóculo preparado; Control de esterilidad de las soluciones de los compuestos en donde se evalúa la esterilidad de las soluciones preparadas del compuesto a evaluar, que además sirve como blanco en lecturas espectrofotométricas; y el Control de

esterilidad del medio en el cual se certifica que el medio de cultivo sea completamente estéril de otros microorganismos.

Tabla 10.

Procedimiento para la determinación de CIM. Controles y resultados esperados. DAA: Determinación de la actividad antifúngica, CI: Control de inóculo, CC: Control de esterilidad de las soluciones de los compuestos, CM: Control de esterilidad del medio.

	DAA	CI	CC	CM
Sol. de compuesto	100 µL	--	100 µL	--
Medio de cultivo	--	100 µL*	--	100 µL
Inóculo hongo	100 µL	100 µL	--	--
Solución fisiológica	--	--	100 µL	100 µL
	Incubación a 28 °C., tiempo necesario según la especie fúngica			
Resultado esperado	--	Desarrollo	Sin desarrollo	Sin desarrollo

*Se coloca un volumen de DMSO igual al volumen máximo de solución del compuesto utilizado para la determinación de actividad antifúngica, que asegura la inocuidad del solvente sobre el desarrollo del hongo.

Las microplacas se incubaron a 28 °C en atmósfera húmeda, sin agitación durante el tiempo adecuado, de acuerdo con el crecimiento de cada hongo (Tabla 11). La CIM de hongos filamentosos fue definida como la mínima concentración en la que no se observó crecimiento visible. En el caso de las levaduras, donde el crecimiento se puede determinar midiendo los cambios en la turbidez, la CIM fue determinada espectrofotométricamente a 405 nm con un lector de microplacas VersaMax (Molecular Devices, Sunnyvale, EEUU)

como la mínima concentración que produjo una inhibición del crecimiento superior al 95% según la figura 58.

Figura 58.

Ecuación porcentaje de inhibición: EC: Evaluación del compuesto, CC: Control del compuesto, CH: Crecimiento del hongo, CM: Control del medio.

$$\% \text{ Inhibición} = 100 - \frac{(EC - CC) \times 100}{CH - CM}$$

Tabla 11.

Hongos utilizados y características experimentales.

	Hongos	Tiempo de incubación	Observación del crecimiento
Levaduras	<i>Candida</i> spp	24 horas	Espectrofotométrica
	<i>C. neoformans</i>	48 horas	
<i>Aspergillus</i> spp	<i>Aspergillus</i> spp	72 horas	Visual
Dermatofitos	<i>M. gypseum</i>	1 semana	Visual
	<i>T. rubrum</i>		
	<i>T. interdigitale</i>		
<i>Fusarium</i> spp	<i>Fusarium</i> spp	3 – 7 días	Visual

3.3.3 Determinación de la CFM

De los pocillos de la determinación de CIM en los cuales no se observó desarrollo fúngico, se tomó una alícuota (10 μ L) y se sembró en placas de Petri que contenían ASG, se incubaron a 28 °C el tiempo necesario según los requerimientos del hongo (Tabla 11) y se determinó la CFM como la mínima concentración en la que no se observó crecimiento visible. Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

3.4 Resultados y discusión

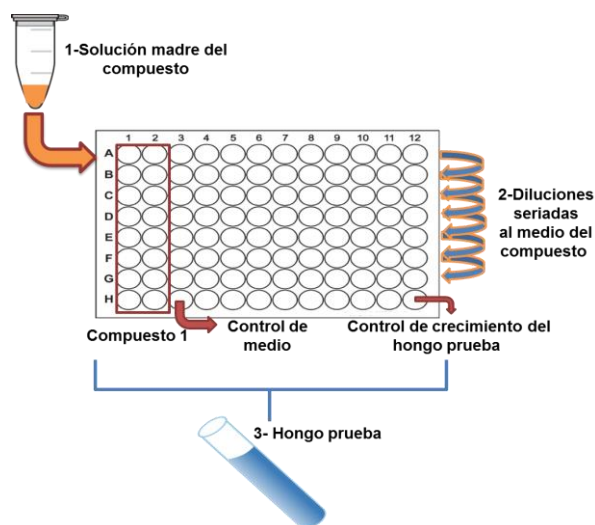
Con el fin de seleccionar los compuestos con mayor potencial frente a diferentes especies de hongos, se determinó la actividad antifúngica de híbridos hidroxiquinolin-azoles en un primer momento frente a un panel de hongos estandarizado compuesto por las levaduras *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, los dermatofitos *Microsporium gypseum*, *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton interdigitale* (ex *T interdigitale*) así como frente a *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*, determinándose la CIM y la CFM por medio del método de dilución.

Se utilizaron microplacas de 96 pocillos con un diseño como el que se muestra en la Figura . Se realizaron diluciones sucesivas al medio de cada compuesto de tal modo que se obtuvieran concentraciones finales en el rango de 250-0,390 μ g/mL, cada dos columnas de por medio se realizó el control de la esterilidad de los compuestos, mientras que en la última fila (fila H) se realizó el control de crecimiento del hongo prueba (Tabla 10).

Las placas se incubaron en oscuridad a 28-30°C utilizando cámara húmeda el tiempo estipulado. Después del tiempo de incubación para los hongos levaduriformes se midió espectrofotométricamente la reducción del crecimiento fúngico producida por cada compuesto en relación con el crecimiento normal del hongo, se registraron los valores de absorbancia de los pocillos a 405 nm con un lector de microplacas VERSA Max (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EE.UU.) lo que permitió el cálculo del porcentaje de inhibición producido.

Figura 59.

Metodología empleada en la preparación de una microplaca para la determinación de la CIM



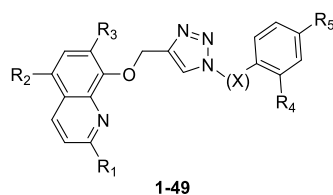
Actividad frente a hongos levaduriformes

La Tabla 12 registra los valores de CIM para diferentes porcentajes de inhibición (100%, 80% y 50%) de los híbridos en estudio. Los compuestos **1, 4, 25, 30, 32, 36 y 38**

presentaron muy buena actividad frente a la cepa *C. albicans* con valores CIM₅₀ entre 3,9 y 15,6 (µg/mL); mientras que el número de compuestos que provocaron una inhibición CIM₅₀ frente a la cepa *C. neoformans* en este mismo rango de valores fue mayor (**1, 2, 3, 4, 5, 18, 25, 32, 36, 37, 38 y 39**), y se percibe como tendencia general que ésta última cepa de hongo presenta mayor sensibilidad ante los diferentes compuestos híbridos probados.

Tabla 12.

Valores de CIM₁₀₀, CIM₈₀, CIM₅₀ y CFM (µg/mL) para los compuestos híbridos TA-HQus **1-49** frente a *C. albicans* y *C. neoformans*.



Comp	X	<i>C. albicans</i>							<i>C. neoformans</i>						
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	CIM ₁₀₀	CIM ₈₀	CIM ₅₀	CFM	CIM ₁₀₀	CIM ₈₀	CIM ₅₀	CFM	
1	0	H	H	H	H	H	15,6	15,6	7,8	15,6	15,6	15,6	3,9	15,6	
2	0	H	Cl	H	H	H	>250	>250	250	-	125	15,6	3,9	-	
3	0	H	Cl	Cl	H	H	>250	250	125	-	62,5	31,2	7,8	-	
4	0	H	Cl	Alilo	H	H	3,9	3,9	3,9	7,8	7,8	3,9	3,9	15,6	
5	0	CH ₃	H	H	H	H	>250	>250	250	-	>250	>250	15,6	-	
6	0	H	H	Alilo	H	H	>250	>250	>250	-	>250	250	62,5	-	
7	0	CH ₃	H	Alilo	H	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-	
8	0	H	H	H	H	Br	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-	
9	0	H	Cl	H	H	Br	>250	>250	250	-	>250	>250	>250	-	
10	0	H	Cl	Cl	H	Br	>250	>250	>250	-	>250	250	250	-	
11	0	H	Cl	Alilo	H	Br	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-	
12	0	CH ₃	H	H	H	Br	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-	
13	0	H	H	Alilo	H	Br	>250	>250	>250	-	>250	>250	125	-	

14	0	CH ₃	H	Alilo	H	Br	>250	>250	>250	-	>250	250	31,2	-
15	0	H	H	H	H	Cl	>250	250	125	-	>250	250	125	-
16	0	H	Cl	H	H	Cl	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-
17	0	H	Cl	Cl	H	Cl	>250	250	125	-	>250	>250	250	-
18	0	H	Cl	Alilo	H	Cl	250	31,2	15,6	250	125	62,5	7,8	250
19	0	CH ₃	H	H	H	Cl	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-
20	0	H	H	Alilo	H	Cl	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-
21	0	CH ₃	H	Alilo	H	Cl	>250	>250	250	-	>250	>250	>250	-
22	0	H	H	H	Cl	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	125	-
23	0	H	Cl	H	Cl	H	>250	>250	250	-	>250	>250	250	-
24	0	H	Cl	Cl	Cl	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-
25	0	H	Cl	Alilo	Cl	H	31,2	31,2	7,8	31,2	31,2	31,2	15,6	31,2
26	0	CH ₃	H	H	Cl	H	250	250	125	250	250	125	125	-
27	0	H	H	Alilo	Cl	H	>250	>250	>250	-	>250	250	62,5	-
28	0	CH ₃	H	Alilo	Cl	H	>250	>250	250	-	>250	>250	250	-
29	1	H	H	H	H	H	>250	250	250	-	>250	250	125	-
30	1	H	Cl	H	H	H	31,2	31,2	15,6	-	62,5	62,5	62,5	-
31	1	H	Cl	Cl	H	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-
32	1	H	Cl	Alilo	H	H	3,9	3,9	3,9	62,5	7,8	3,9	3,9	62,5
33	1	CH ₃	H	H	H	H	>250	>250	250	-	>250	250	62,5	-
34	1	H	H	Alilo	H	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	125	-
35	1	CH ₃	H	Alilo	H	H	>250	250	250	-	>250	250	250	-
36	1	H	H	H	Cl	H	7,8	3,9	3,9	15,6	15,6	15,6	7,8	15,6
37	1	H	Cl	H	Cl	H	>250	125	125	-	125	125	15,6	-
38	1	H	Cl	Cl	Cl	H	3,9	3,9	3,9	-	7,8	3,9	3,9	-
39	1	H	Cl	Alilo	Cl	H	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	7,8	3,9	62,5
40	1	CH ₃	H	H	Cl	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-
41	1	H	H	Alilo	Cl	H	>250	>250	250	-	>250	>250	250	-
42	1	CH ₃	H	Alilo	Cl	H	>250	>250	250	-	>250	>250	>250	-
43	1	H	H	H	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-
44	1	H	Cl	H	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-

45	1	H	Cl	Cl	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-
46	1	H	Cl	Alilo	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-
47	1	CH ₃	H	H	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	>250	-
48	1	H	H	Alilo	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	250	-
49	1	CH ₃	H	Alilo	Br	H	>250	>250	>250	-	>250	>250	125	-
Fcz	-	-	-	-	-	-	-	-	2	32	-	-	0,5	16
Amp	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	0,25	-	-	0,25

Adicionalmente se construyeron curvas dosis-respuesta (“concentración” vs “% de inhibición”) con el software Sigmaplot 11.0 (gráficas comparativas de actividad entre los compuestos que tienen fijo bloque quinolínico) que se muestran en las gráficas 1-7. Se agruparon dejando fijo el bloque o moiety quinolínico de los híbridos que permita dar un primer acercamiento a la relación estructura-actividad.

Figura 60.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 8-hidroxiquinolina.

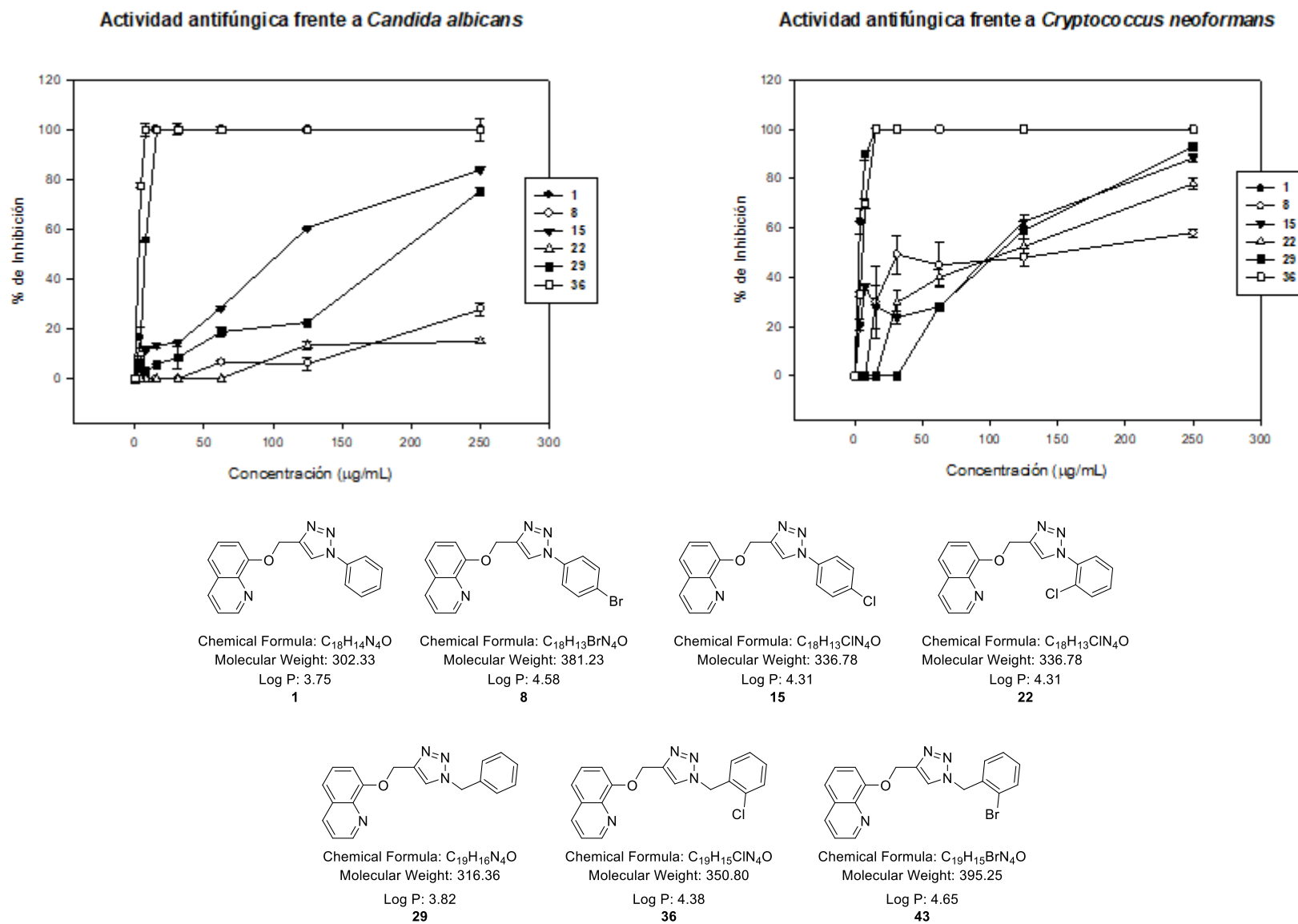


Figura 61.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 5-cloro-8-hidroxiquinolina.

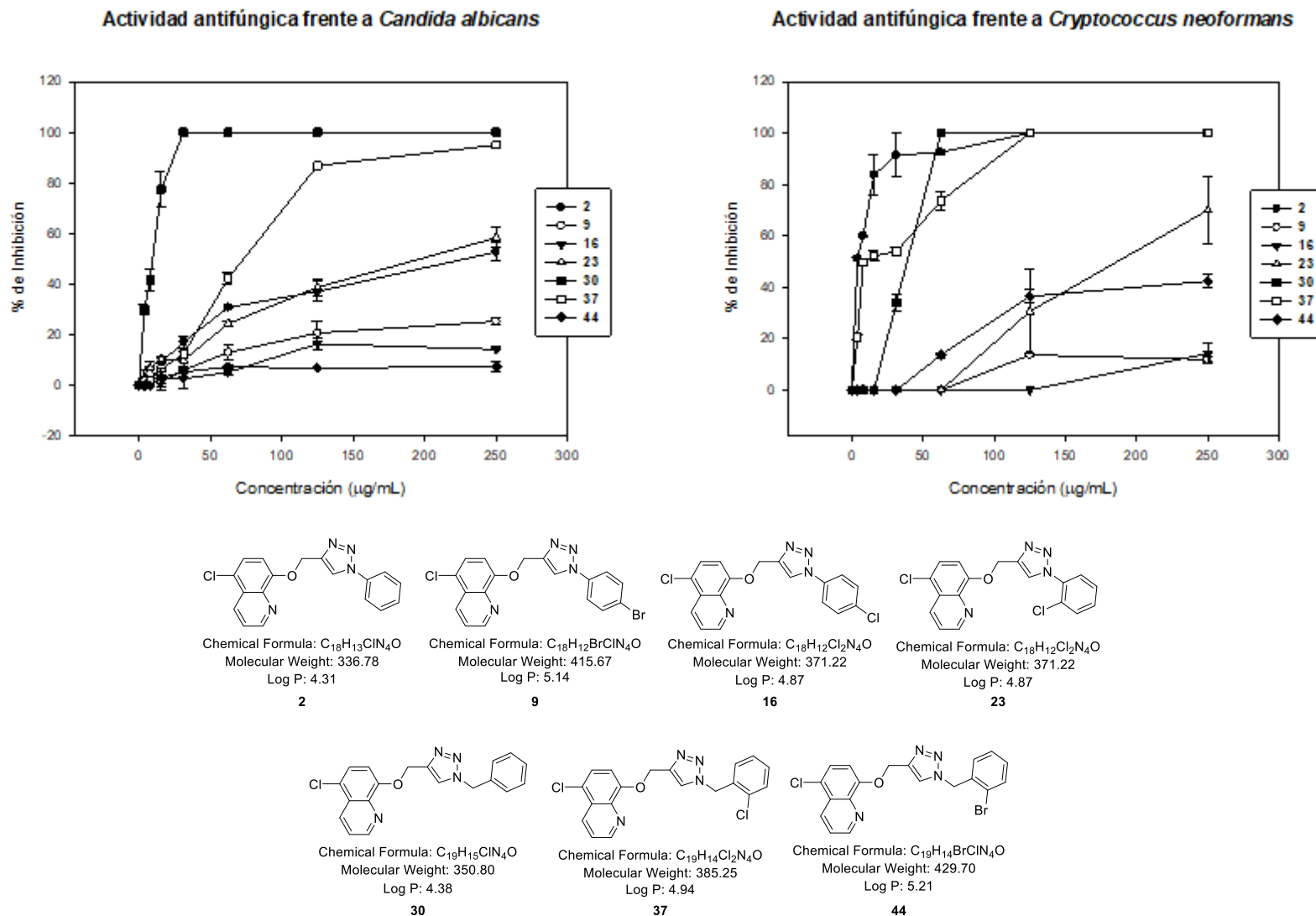


Figura 62.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 5,7-dicloro- 8-hidroxiquinolina.

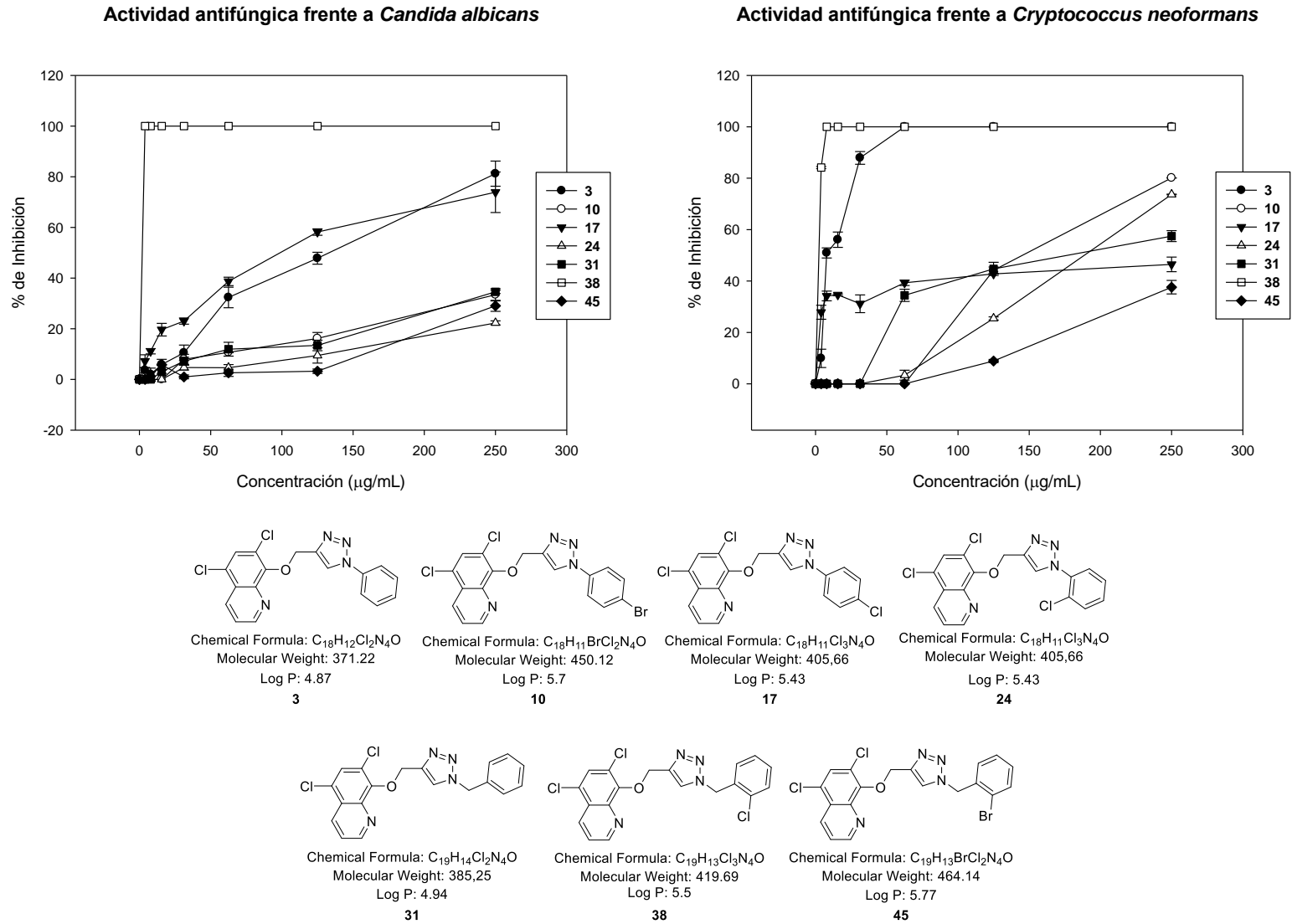


Figura 63.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 7-alil-5-cloro-8-hidroxiquinolina.

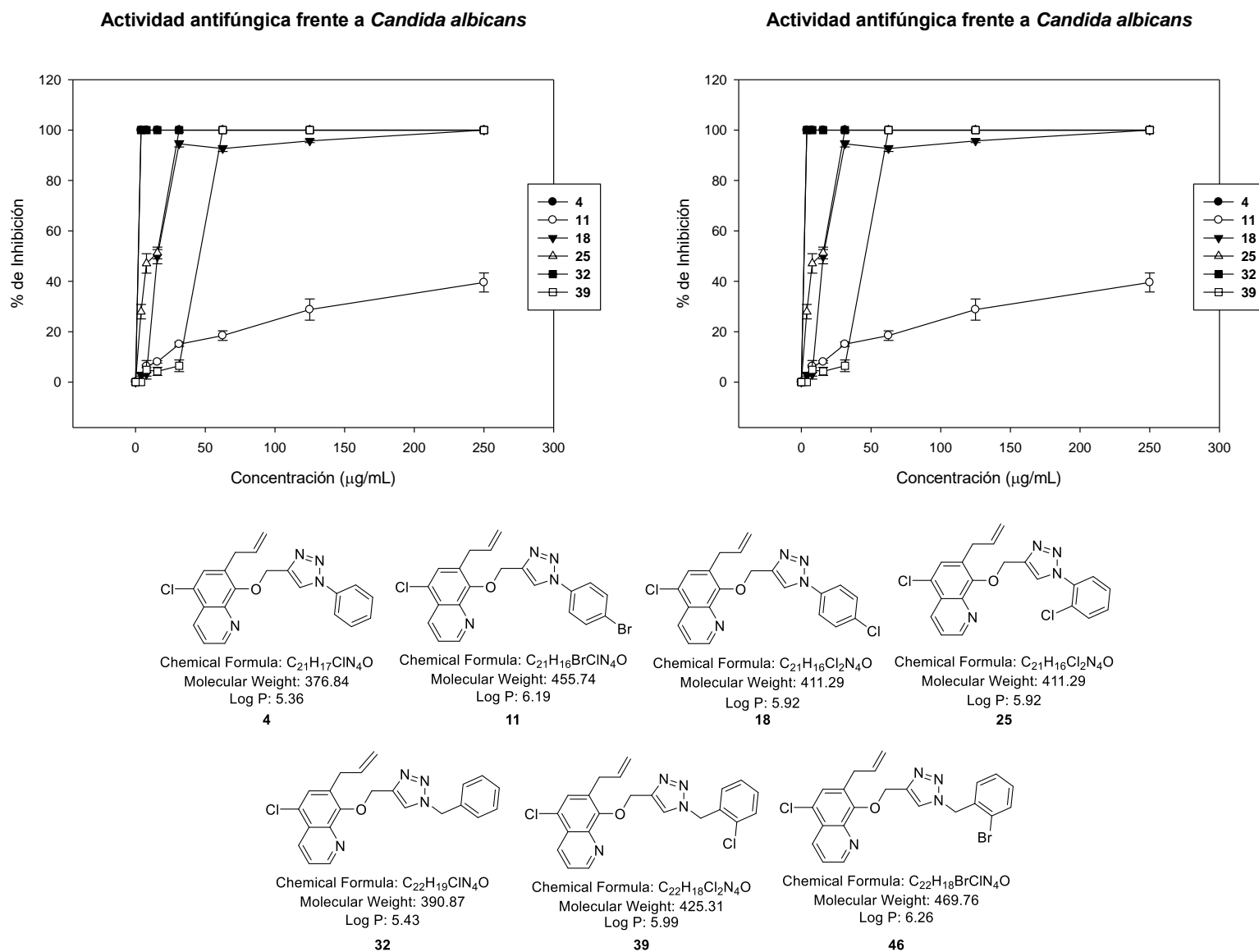


Figura 64.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 2-metil-8-hidroxiquinolina.

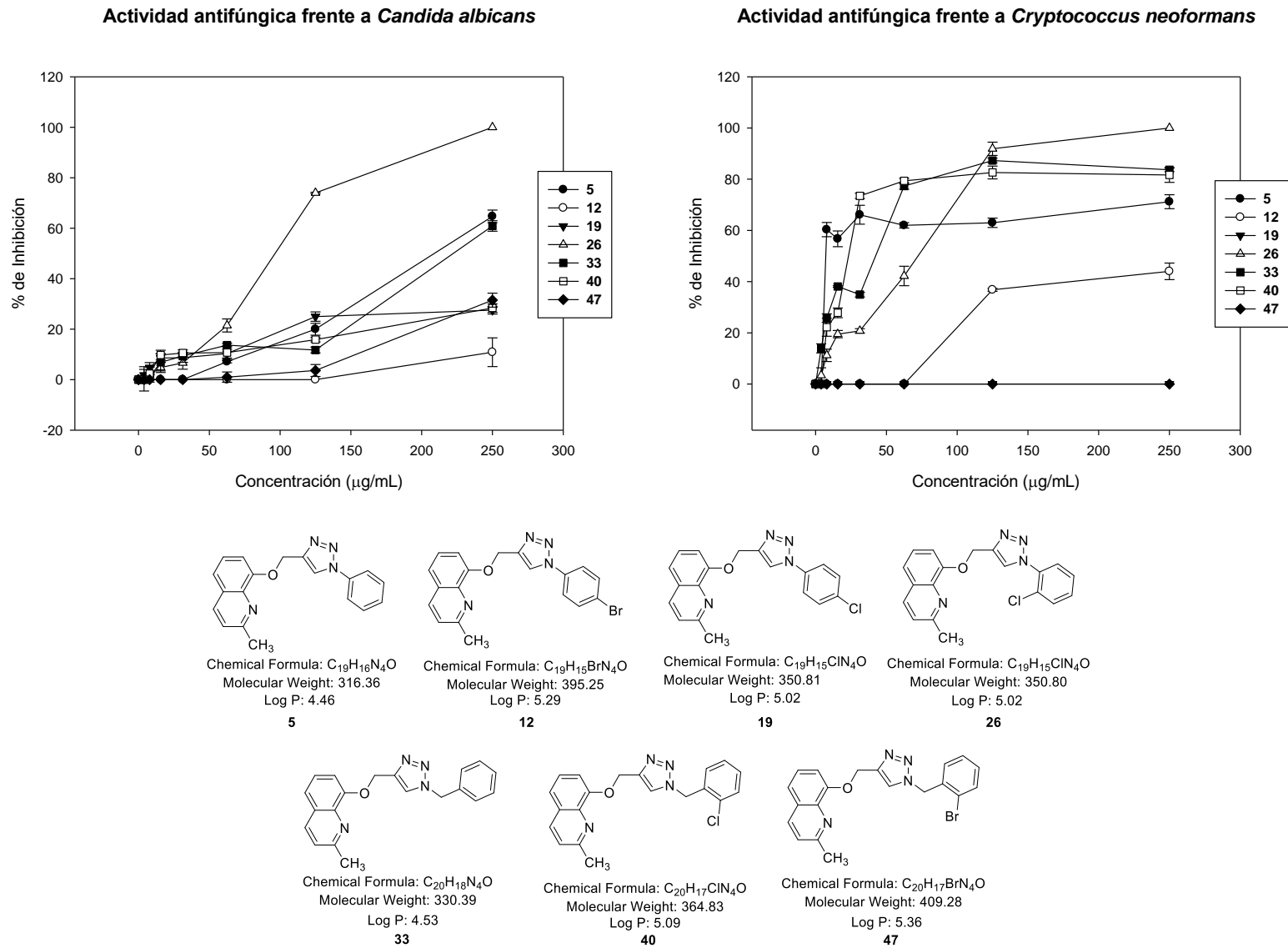


Figura 65.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 7-*alil*-8-*hidroxi*quinolina.

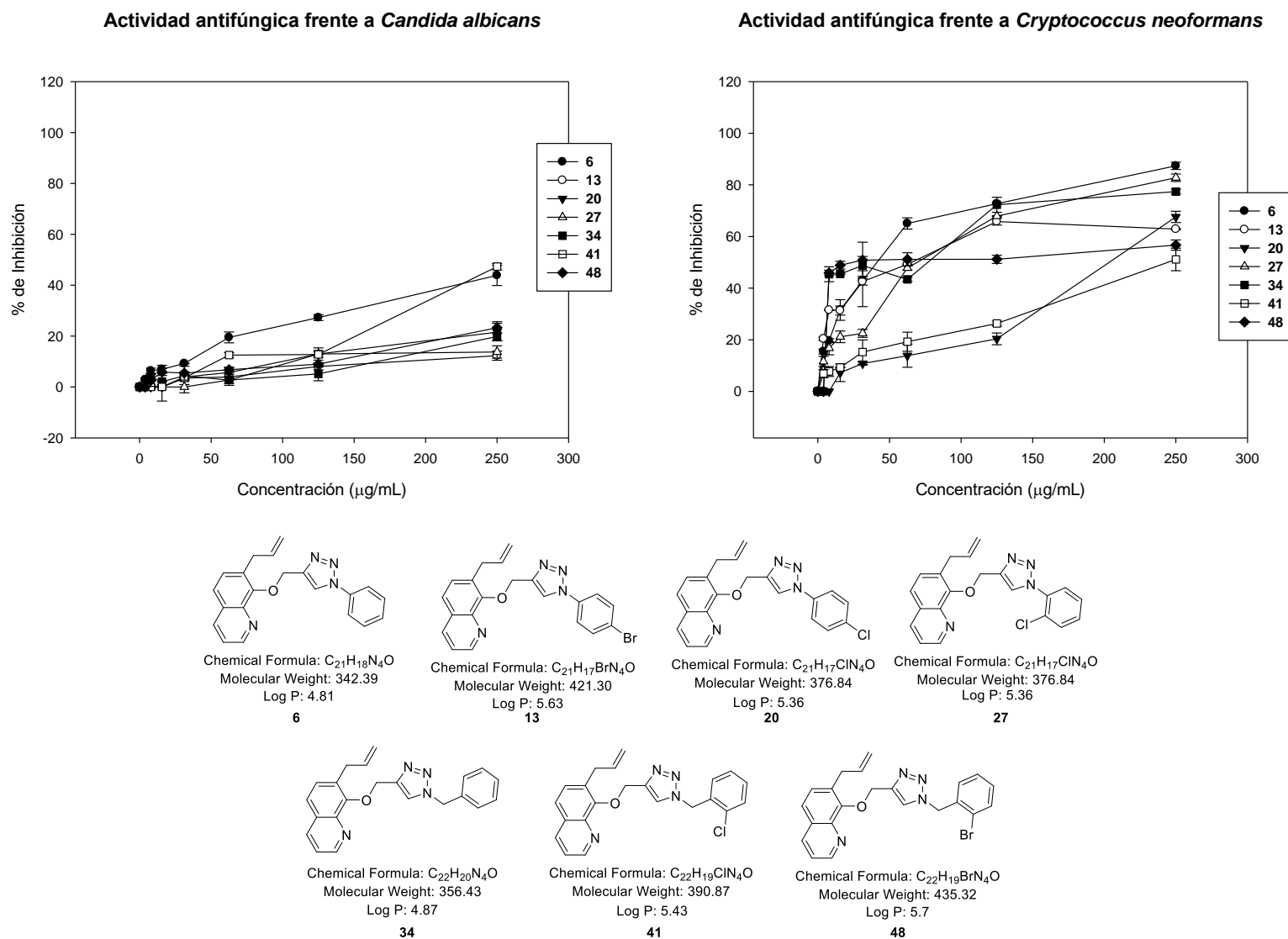
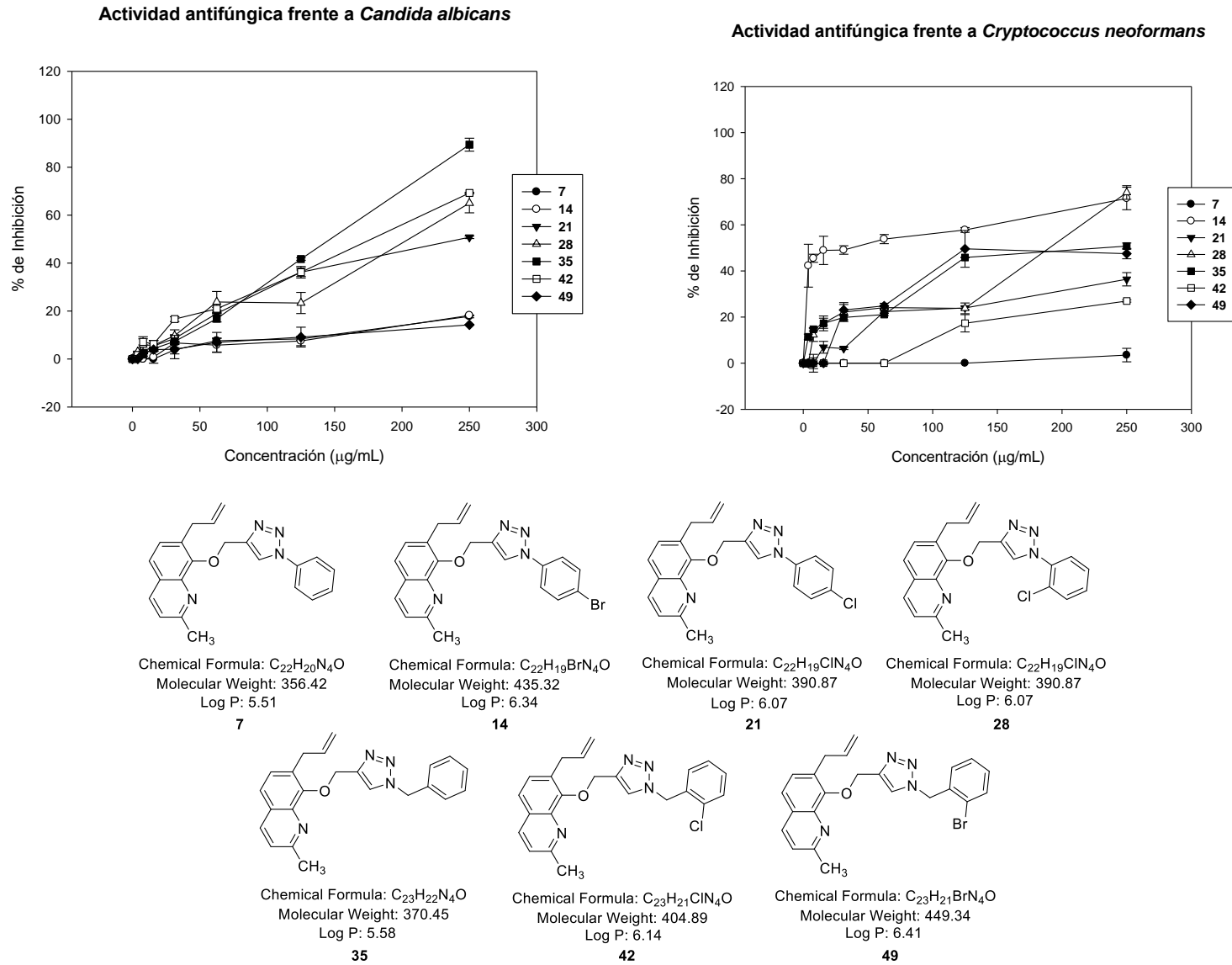


Figura 66.

Gráficas de concentración vs % de inhibición para los híbridos derivados de 7-alil-2-metil-8-hidroxiquinolina



Del análisis de las gráficas de concentración vs % de inhibición de los compuestos híbridos se tiene una primera aproximación de la relación estructura-actividad en donde caben ser resaltados las siguientes observaciones:

De manera general (comparando las figura 60 - 66), los híbridos que mostraron mayor actividad frente a ambas cepas analizadas (*C. neoformans* y *C. albicans*) fueron aquellos que presentaban como sustituyentes el grupo alilo en posición C-7 y un átomo de cloro en posición C-5 del anillo quinolínico (cinco de los siete ejemplos probados presentaron porcentajes de inhibición superior al 80% en concentraciones por debajo de 50 µg/mL frente a *C. albicans* y superior a 60% para el mismo rango de concentración frente a *C. neoformans*) (figura 63).

En la figura 60 se compara la actividad de los siete híbridos que tienen en común la 8-hidroxiquinolina como esqueleto quinolínico fijo. Si se observa el comportamiento de los compuestos **8** y **15**, que solo difieren entre sí en el átomo sustituyente en posición *para* de su fracción triazol, se evidencia que el compuesto con bromo presenta un porcentaje de inhibición mucho menor que el mostrado por el que compuesto que tiene el átomo de cloro. Esto puede ser posible que se deba al tamaño del bromo que pudiera impedir intercalar las láminas de DNA si este fuera su mecanismo de acción (Barraja, 1999).

En las figuras 61 y 62 se compara la actividad de los híbridos derivados de 5-cloro-8-hidroxiquinolina y 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina en los que se observa que los compuestos que presentan mayor actividad son los que en su fragmento triazólico están

sustituídos por un grupo bencilo **30**, **31**, **37** y **38** con excepción de **44** y **45** que posee en su esqueleto un átomo de bromo.

Además de ser los más activos frente a las levaduras evaluadas, los derivados de la 7-alil-5-cloro-8-hidroxiquinolina que se comparan en la figura 63, evidencian que el único híbrido que presentaba valores de porcentaje de inhibición por debajo del 50% en las concentraciones estudiadas (máxima de 250 $\mu\text{g/mL}$) es el compuesto **46** que tiene en su estructura un grupo bencilo sustituido en posición dos con un átomo de bromo.

Para los híbridos derivados de 2-metil-8-hidroxiquinolina y 7-alil-8-hidroxiquinolina (figura 64 y figura 65), cualquier sustitución que se realice sobre el fragmento triazol no varía considerablemente los resultados de actividad antifúngica sobre estas especies de hongo, ya que estos compuestos presentan una notable reducción de su actividad en general.

Adicionalmente de los resultados mostrados en la Tabla 12, se concluye que la sustitución del anillo quinolínico en posición C-2 por un grupo metilo (**7**, **14**, **21**, **28**, **35**, **42**, **49**) reduce considerablemente la actividad de los compuestos estudiados y de igual manera sucede con la sustitución en la posición C-7 por un grupo alilo (**6**, **13**, **30**, **27**, **34**, **41**, **48**) obteniéndose valores de CIM_{100} iguales o superiores a 250 $\mu\text{g/mL}$.

Si se comparan los compuestos híbridos derivados de la 7-alil-2-metil-8-hidroxiquinolina (figura 66) se observa que disminuye aún más la actividad de los diferentes compuestos como se puede apreciar en la variación de los valores de las CIM_{50} de los compuestos que tienen por separado estos sustituyentes dentro de su estructura (como los

ejemplo **5**, **6** y **7**). Adicionalmente, se observa que la presencia de un átomo de bromo en posición C-2 o C-4 en el sustituyente fenilo (o bencilo) del anillo 1,2,3-triazólico reduce mucho la actividad antifúngica estudiada (**14**, **42** y **49**).

Actividad frente a hongos filamentosos (Aspergillus spp. y Dermatofitos)

Los compuestos híbridos hidroquinolin-azoles fueron testeados igualmente en cepas de hongos filamentosos que hacen parte de la batería inicial de pruebas que permitieron dar un mayor acercamiento a la selección de las sustancias que fueron evaluadas sobre cepas de hongos fitopatogénicos del género *Fusarium* en un ensayo posterior.

En un primer momento, se realizó un *screening* inicial con el total de los compuestos evaluando la actividad de los 49 híbridos frente a las seis cepas de hongos filamentosos a una concentración de 250 µg/mL. Este cribado inicial permitió determinar cuáles de los compuestos presentaban una actividad frente a las diferentes cepas de hongos filamentosos con un gran ahorro de reactivos, disolventes y mínimas cantidades de sustancias. Los compuestos que mostraron actividad fueron llevados a una evaluación completa y la Tabla 13 registra los valores de concentración inhibitoria mínima CIM₁₀₀ de los híbridos en estudio como la mínima concentración a la cual no se observó crecimiento.

Los compuestos **1**, **10**, **23**, **32** presentaron muy buena actividad frente a las tres cepas de *Aspergillus spp.* estudiadas con valores de CIM₁₀₀ entre 15,6 y 31,3 µg/mL, adicionalmente, los compuestos **9** y **11** presentaron valores de CIM de 31,3 µg/mL para al

13	>250	>250	>250	>250	>250	>250
14	>250	>250	>250	>250	>250	>250
15	>250	>250	>250	>250	>250	>250
16	>250	>250	>250	>250	>250	>250
17	>250	250	250	125	>250	250
18	125	62,5	125	62,5	62,5	125
19	>250	>250	>250	>250	>250	>250
20	>250	>250	>250	>250	>250	>250
21	>250	>250	>250	>250	>250	>250
22	>250	>250	>250	>250	>250	>250
23	15,6	15,6	15,6	3,9	7,81	7,81
24	>250	>250	>250	>250	>250	>250
25	>250	>250	>250	>250	>250	>250
26	>250	>250	>250	>250	>250	>250
27	>250	>250	>250	>250	>250	>250
28	250	>250	125	31.3	31.3	31.3
29	>250	>250	>250	>250	>250	>250
30	>250	>250	>250	>250	>250	>250
31	>250	>250	>250	>250	>250	>250
32	15,6	15,6	15,6	3,9	15,6	15,6
33	>250	>250	>250	>250	>250	>250
34	>250	>250	>250	>250	>250	>250
35	>250	>250	>250	>250	>250	>250
36	>250	>250	>250	>250	>250	>250
37	>250	>250	>250	>250	>250	>250
38	>250	>250	>250	>250	>250	>250
39	>250	>250	>250	>250	>250	>250
40	>250	>250	>250	>250	>250	>250

41	>250	>250	>250	>250	>250	>250
42	>250	>250	>250	>250	>250	>250
43	>250	>250	>250	>250	>250	>250
44	>250	>250	>250	>250	>250	>250
45	>250	>250	>250	>250	>250	>250
46	>250	>250	>250	>250	>250	>250
47	>250	>250	>250	>250	>250	>250
48	>250	>250	>250	>250	>250	>250
49	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Amp	0,5	0,5	0,5	-	-	-
Fcz	0,125	0,5	0,25	0,05	0,025	0,025

1. *Aspergillus fumigatus*; 2. *Aspergillus flavus*; 3. *Aspergillus niger*;
4. *Microsporum gypseum*; 5. *Trichopyton rubrum*; 6. *Trichopyton interdigitale*.

El número de compuestos que provocaron una inhibición CIM₁₀₀ frente a las cepas de dermatofitos en estos mismos rangos de valores fue ligeramente mayor (10 compuestos), agregándose a la lista el compuesto **8** que presento una leve actividad frente a *T. rubrum* de 62,5 µg/mL y *T. interdigitale* de 250 µg/mL. Sin embargo, los valores de CIM demuestran que los dermatofitos son microorganismos más sensibles a los compuestos evaluados. Los compuestos presentaron valores de CIM₁₀₀ entre 3,9 y 31,3 µg/mL para al menos dos cepas de dermatofitos fueron **1**, **9**, **10**, **11**, **23**, **28** y **32**; mientras que **17** mostró una ligera actividad frente a *M. gypseum* (125 µg/mL) y *T. interdigitale* (250 µg/mL) y **18** con una actividad sobre *M. gypseum* y *T. rubrum* de 62,5 µg/mL y *T. interdigitale* de 125 µg/mL.

Una primera observación de la relación estructura-actividad muestra que 8 de los 10 compuestos que mostraron actividad frente a cepas de hongos filamentosos poseen en su estructura al menos un átomo de cloro (80%) lo que corrobora la hipótesis planteada dentro del plan de proyecto en donde se compararon la naturaleza química de fungicidas comerciales como el fienoconazol, folicur, climbazol, entre otros que evidencian la presencia de este heteroátomo en sus estructuras. Sin embargo, la diferencia en solo un átomo de bromo de una híbrido a otro ocasiona que la actividad se disminuya drásticamente, es el caso por ejemplo de los compuestos **10** y **17**. El compuesto **10** presenta muy buena actividad para todas las especies de hongos filamentosos evaluados con concentraciones inhibitorias mínimas entre 7,8 y 31,3 $\mu\text{g/mL}$, no obstante, si el átomo de cloro en el anillo triazólico se reemplaza por un átomo de bromo, la actividad pasa a ser baja o nula con valores de CIM entre 125 y 250 $\mu\text{g/mL}$.

De los resultados observados de la Tabla 13 también se puede concluir que las cepas de los hongos filamentosos son menos sensibles frente a los compuestos evaluados en comparación con la sensibilidad presentada por los hongos levaduriformes.

3.4.1 Actividad antifúngica frente a hongos fitopatógenos

Fusarium es un género complejo de hongos ascomicetos que consiste en patógenos que afectan plantas de relevancia agrícola como microorganismo infeccioso principal u oportunistas. Así, controlar las infecciones generadas por *Fusarium* en cultivos que conduce a grandes pérdidas económicas continúa siendo un desafío.

Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos son las responsables de grandes pérdidas económicas, que resultan principalmente de la reducción del rendimiento de los diferentes cultivos, así como de la disminución de la calidad de los productos.

F. oxysporum fue, por ejemplo, fue el agente causal de la casi devastación de la industria bananera en la década del '60 en Panamá (Zhang, Mallik, & Zeng, 2013), *F. proliferatum*, *F. subglutinans* y *F. verticillioides* son conocidos como agentes patógenos causantes de la producción de una serie de toxinas (fumonisinas) en el maíz y de otros cultivos (Cotten & Munkvold, 1998; De la Torre-Hernández, *et. al.*, 2014; Sun *et al.*, 2018). *F. incarnatum* también conocido como *F. semitectum* está asociado a la pudrición de semillas y vainas del frijol así como la germinación reducida de semillas y crecimiento de plántulas en el sorgo (Pinaria, Liew, & Burgess, 2010). *F. solani* puede ser la especie que reúne mas subespecies (alrededor de 26 hongos filamentosos), es un hongo perteneciente al suelo, aunque comúnmente colonizador de materiales vegetales. Se ha registrado como un patógeno en una amplia gama de plantas hospederas, entre ellas varias leguminosas y otras plantas tropicales (Leslie & Summerell, 2006). *F. graminearum* causante de la fusariosis, una de las enfermedades más importantes de los cereales debido a su capacidad de producir distintos tipos y niveles de toxinas, en especial deoxinivalenol (DON) (M. Martinez *et al.*, 2014). *F. tucumaniae* reportado como uno de los principales causantes del síndrome de muerte súbita (SMS) que se presenta generalmente en plantas aisladas que se caracteriza por podredumbre de raíces y muerte de los hospederos como por ejemplo en la soja (Formento, *et. al.*, 2014).

Para la evaluación de la actividad antifúngica se seleccionaron 12 compuestos que habían mostrado actividad frente al menos una de las cepas del panel de hongos estandarizados evaluadas previamente. Adicionalmente se escogieron nueve especies del género *Fusarium*: *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. incarnatum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. dlamini* y *F. tucumaniae*. Los resultados se presentan en la Tabla 15. Adicionalmente la Tabla 14 presentan los valores de CIM para antifúngicos comerciales que fueron evaluados en cinco de las nueve especies como controles positivos.

Tabla 14.

Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de antifúngicos comerciales frente a panel de hongos fitopatógenos (CIM_{100})

Antifúngico comercial	Componente	<i>F. proliferatum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. verticillioides</i>	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. incarnatum</i>
Ritiram	Thiram 35%	8,20	2,05	8,20	8,20	8,20
	Carbendazim 15%	3,51	0,88	3,51	3,51	3,51
Vibrance	Difenoconazol 2,5%	>36,25	>36,25	>36,25	>36,25	>36,25
	Fludixonil 2,5%	>36,25	>36,25	>36,25	>36,25	>36,25
	Tiametoxam 17,5%	>250	>250	>250	>250	>250
	Sedaxane 5%	>72,5	>72,5	>72,5	>72,5	>72,5

Maxim Evolution	Fludixonil 2,5%	0,66	0,17	1,33	0,66	0,66
	Metalaxyl-M 2%	0,53	0,13	1,06	0,53	0,53
	Tiabendazol 15%	3,98	1,00	7,96	3,98	3,98
Maxim Quattro	Tiabendazol 30%	31,87	0,99	3,98	3,98	3,98
	Fludioxonil 3,75%	3,94	0,12	0,49	0,49	0,49
	Metalaxyl-M 3%	3,19	0,09	0,39	0,39	0,39
	Azoxistrobina 1,5%	1,59	0,04	0,19	0,19	0,19
Maxim XL	Fludixonil 2,5%	7,81	0,49	31,25	0,49	1,95
	Metalaxyl-M 1%	3,12	0,19	12,5	0,19	0,78
Danjiri	Metil tiofanato 15%	3,98	0,50	3,98	1,99	0,99
	Thiram 30%	7,97	1,00	7,96	3,98	1,99
	Ethaboxam 5%	1,39	0,17	1,32	0,66	0,33
Apron Gold	Metalaxyl-M 35%	>250	>250	>250	>250	>250
Carbendazim	Carbendazim 50%	0,49	0,49	0,49	0,49	3,9

De los compuestos evaluados en esta parte del trabajo, dos resultaron inactivos (con valores de CIM mayores a 250 µg/mL frente a todos los microorganismos estudiados, mientras que los diez restantes presentaron actividad frente al menos cinco de las nueve especies (83%). En la mayoría de los casos los compuestos resultaron ser fungicidas para el total de las nueve cepas de hongos testeados (**1**, **4**, **25**, **32**, **36** y **38**).

El compuesto **4** resultó ser el compuesto más activo frente a *F. proliferatum* (7,8 µg/mL), *F. oxysporum* (3,9 µg/mL), *F. verticillioides* (7,8 µg/mL, al igual que el compuesto **32**), *F. subglutinans* (3,9 µg/mL), *F. incarnatum* (7,8 µg/mL, al igual que el compuesto **32** y **38**), *F. solani* (7,8 µg/mL, al igual que el compuesto **32** y **36**), *F. graminearum* (7,8 µg/mL), *F. dlamini* (3,9 µg/mL) y *F. tucumaniae* (7,8 µg/mL, al igual que el compuesto **32**).

Aunque el compuesto **2** presentó actividad frente a *C. neoformans*, fue inactivo frente a *F. solani*, *F. graminearum*, *F. dlamini*, *F. tucumaniae* y presentó actividad leve frente a las demás cepas con valores de CIM entre 62,5 y 125 µg/mL. Aunque los compuestos **5** y **37** presentaron actividad frente a las levaduras de la primera parte, cuando fueron evaluados frente a estas especies fitopatógenas del género *Fusarium* resultaron inactivos frente a cada una de ellas (con CIM >250 µg/mL).

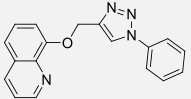
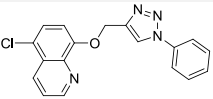
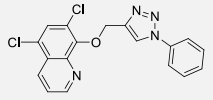
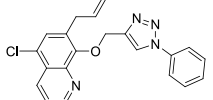
Por otro lado, *F. oxysporum* y *F. graminearum* resultaron ser los microorganismos más susceptibles frente a los compuestos híbridos hidorxiquinolín-azoles evaluados, ya que a excepción de los heterociclos completamente inactivos, al menos cinco (**1**, **4**, **25**, **32**, **36** y **38**) de los compuestos restantes bajo evaluación inhibieron su crecimiento con una CIM entre 3,9 y 15,6 µg/mL.

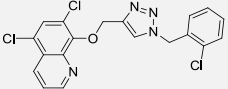
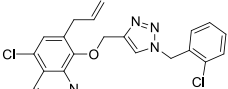
En cuanto a la relación estructura-actividad, los compuestos que presentaron mayor actividad (con valores de CIM₁₀₀ entre 3,9 y 15,6 µg/mL para las nuevas cepas estudiadas en esta parte del trabajo, fueron aquellos que contaban con el grupo alilo como sustituyente en la posición C-7 y un átomo de cloro en la posición C-5 del anillo quinolínico (compuestos **4** y **32**).

Al igual que lo observado para los hongos levaduriformes y los dermatofitos, la sustitución en la posición 2 del anillo quinolínico por un grupo metilo inactiva completamente la actividad antifúngica como se evidencia en los valores de CIM para el compuesto **1** de 15,6 a 31,3 µg/mL y su análogo sustituido **5** completamente inactivo (CIM = >250 µg/mL).

Tabla 15.

Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de derivados TA-HQus frente a panel de hongos fitopatógenos.

Comp.	Estructura	<i>F. proliferatum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. verticillioides</i>	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. incarnatum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. dlamini</i>	<i>F. tucumaniae</i>
1	 <p>Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ Molecular Weight: 302.33 Log P: 3.75</p>	31,3/31,3	31,3/31,3	31,3/31,3	15,6/62,5	31,3/62,5	31,3/31,3	15,6/31,3	15,6/31,3	15,6/62,5
2	 <p>Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}$ Molecular Weight: 336.78 Log P: 4.31</p>	62,5/250	62,5/62,5	125/>250	62,5/>250	62,5/62,5	>250/>250	>250/>250	250/>250	250/>250
3	 <p>Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ Molecular Weight: 371.22 Log P: 4.87</p>	125/>250	62,5/1255	250/>250	62,5/>250	62,5/>250	62,5/>250	31,3/>250	62,5/>250	62,5/>250
4	 <p>Chemical Formula: $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}$ Molecular Weight: 376.84 Log P: 5.36</p>	7,8/15,6	3,9/3,9	7,8/62,5	3,9/7,8	7,8/15,6	7,8/31,3	7,8/15,6	3,9/15,6	7,8/7,8

38	 <p>Chemical Formula: C₁₉H₁₃Cl₂N₄O Molecular Weight: 419.69 Log P: 5.5</p>	62,5/250	15,6/31,3	15,6/125	15,6/62,5	7,8/15,6	15,6/31,3	15,6/31,3	15,6/31,3	15,6/31,3
39	 <p>Chemical Formula: C₂₂H₁₈Cl₂N₄O Molecular Weight: 425.31 Log P: 5.99</p>	62,5/62,5	62,5/62,5	62,5/125	62,5/62,5	125/125	62,5/250	62,5/125	125/125	125/>250

3.5 Conclusiones del capítulo 3

La evaluación de la actividad antifúngica mostró que siete de los cuarenta y nueve híbridos evaluados presentaron fuerte actividad contra los hongos levaduriformes: *C. albicans* y *C. neoformans* con CIMs entre 3,9 y 15,6 µg/mL y CFMs entre 7,8 y 125 µg/mL.

Se determinó la actividad antifúngica de los doce híbridos que presentaron actividad frente a hongos de un panel estandarizado de cepas en nueve cepas de hongos del género *Fusarium* mostrando valores de CIM entre 7,8 y 62,5 µg/mL

Una primera aproximación de la relación estructura-actividad permite concluir que para que exista actividad antifúngica apreciable, la estructura de un híbrido hidroxiquinoliazol debe estar sustituido en la posición C-5 del anillo quinolínico por un átomo de cloro y en la posición C-7 por un grupo alilo.

La presencia de un grupo metilo sustituyente en la posición del anillo quinolínico puede disminuir e incluso inactivar la actividad antifúngica de los híbridos hisroxiquinolinazoles.

4. Estudio de la actividad insecticida de derivados triazolquinolínicos para el control de *Spodoptera frugiperda* plaga del maíz

4.1 Importancia del control de plagas

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), es una plaga ampliamente distribuida en América, capaz de causar graves pérdidas en los cultivos de maíz, el arroz, el sorgo, el maní, caña de azúcar, soja, algodón, alfalfa, tomate y papa (Barrera et al., 2011). El control químico es ampliamente empleado frente a esta plaga, los pesticidas sintéticos son de acción rápida (Scapinello et al., 2014); sin embargo, ellos suelen ser tóxicos para los mamíferos, y los organismos no objetivos y tienen una tasa de degradación baja, contaminando los ecosistemas por largo tiempo (Estevez et al., 2008). Cada año, estos xenobióticos son producidos, y utilizados en exceso, causando efectos tóxicos en los animales, humanos, y favoreciendo el desarrollo de la resistencia.

Se requieren nuevos productos químicos para el manejo de plagas debido a los problemas ecológicos asociados a los pesticidas, en los últimos años ha aparecido en la literatura el desarrollo sintético, y el estudio biológico de una clase especial de derivados quinolínicos enlazados a tiazoles; esta unión ha generado potenciación de las bioactividades mostradas por cada uno de estos sistemas por separado.

Una sola molécula con actividad dual se considera mejor que el uso de mezclas de diferentes compuestos y evita las desventajas que surgen de la combinación de dos agentes por separado con diferentes propiedades de ADMETox (absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad). Por esto, creemos que la unión de los anillos de quinolinas, inhibidores de la acetilcolinesterasa, y de los anillos triazólicos, con alta actividad insecticida y baja toxicidad, podría generar moléculas capaces de ser efectivas para el control del *Spodoptera frugiperda*, una plaga que amenaza la seguridad alimentaria de Colombia.

El maíz es una de las plantas de cultivo más importantes del mundo, con una facturación anual de billones de dólares (DANE, 2016). Además de su importancia agronómica, el maíz ha sido una piedra angular y organismo modelo para investigaciones genéticas, citogenéticas, y genómicas (Strable & Scanlon, 2009). Como organismo modelo, el maíz ha sido objeto de investigaciones de largo alcance en: la domesticación de plantas, la evolución del genoma, la fisiología del desarrollo, la epigenética y resistencia a plagas, etc.; estos y otros estudios, se adelantaron por la secuenciación y diferenciación de los genes del maíz (Lim, 2013; Staller, 2010).

4.2 Ciclo de vida del *Spodoptera frugiperda*

El gusano cogollero del maíz es originario de las regiones tropicales del hemisferio occidental, desde los Estados Unidos hasta Argentina (Capinera, 2008). El ciclo de vida completo de huevo a polilla es de aproximadamente 30-90 días, los huevos son depositados en grupos, que van desde 20 a más de 350 huevos por lote (EMPO, 2015). Por lo general, se colocan en una capa, pero a veces en dos capas parciales; los lotes de huevos de *Spodoptera* están cubiertas de pelos del

abdomen de las hembras, son de color blanco tienen forma de cúpula, la base es plana y los huevos se curvan hacia arriba en un punto ampliamente redondeado en el ápice (de aproximadamente 0.45 mm de ancho por 0.35 mm de alto). La duración de la etapa de huevo es de sólo dos o tres días (figura 67) (Capinera, 2008).

Figura 67.

Ciclo de vida del Spodoptera frugiperda



Las larvas de *Spodoptera* tienen las siguientes características que comparten con la mayoría de las larvas de la familia Noctuidae son: tres pares de patas verdaderas, cuatro pares de patas falsas abdominales, un par de patas falsas anales, posee un protórax, cabeza con seis ojos simples laterales, y ganchos unilaterales dispuestos en una línea.

Las larvas se pueden clasificar en seis estadios por el tamaño de su cabeza de 0.35, 0.45, 0.75, 1.3, 2.0, y 2.6 mm, respectivamente, para los estadios del 1-6, pueden alcanzar longitudes de

aproximadamente 1.7, 3.5, 6.4, 10.0, 17.2, y 34.2 mm, respectivamente, durante estos estadios (Capinera, 2008).

Las larvas jóvenes son de color verdoso con cabeza negra la cual se torna anaranjado en el segundo instar; en el tercer estadio, la superficie dorsal del cuerpo se vuelve de color marrón, y empieza a formarse líneas blancas laterales en el dorso, del cuarto al sexto estadio la cabeza es de color marrón rojizo con manchas blancas, y el cuerpo es de color marrón con líneas laterales blancas en el dorso con espinas en su cuerpo; además del color marrón típico del *Spodoptera*, las larvas pueden ser de color verde. En la forma de color verde, las manchas dorsales son oscuras.

Las larvas tienden a ocultarse en el momento más brillante del día, la duración de la fase larvaria tiende a ser alrededor de 14 días durante el verano y 30 días durante el invierno. La pupación tiene lugar normalmente en el suelo, a una profundidad de 2-8 cm. La larva construye un capullo suelto de forma oval, la pupa es de color marrón, cerca de 15-22 mm de longitud, con unas pequeñas espinas (llamados cremáster), que constan de dos lomos de unos 0,5 mm de largo, estas espinas pueden romper fácilmente o son a veces poco desarrolladas. La duración de la etapa de pupa es de unos ocho a nueve días en clima cálido, alcanzando 20-30 días en clima frío. En estado de pupa el gusano cogollero no puede soportar periodos prolongados de tiempo frío.

En la madurez, las polillas tienen una envergadura de 32 a 40 mm. Las alas anteriores tienen una longitud de 10.5-15 mm en los machos y 11-18 mm en las hembras. La especie tiene marcas de la línea transversal de color blanco y marrón, este color de es variable de color marrón grisáceo a marrón óxido. Por otra parte, los machos pueden tener manchas de color marrón claro orbitales,

ovaladas, oblicuas, y no tan estrechas como en las hembras. Los adultos son nocturnos y son más activos durante las noches cálidas y húmedas. La vida adulta se estima en un promedio de 10 días, con un alcance de 21 días (Capinera, 2008; EMPO, 2015)

4.3 Insecticidas sintéticos e inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa

Los insecticidas y los agentes nerviosos organofosforados son potentes inhibidores irreversibles de la hidrolasa serina, una súper familia de enzimas, de las cuales la AChE es un miembro importante (Pang *et al.*, 2012). Los pesticidas organofosforados se hicieron populares después de la prohibición, del DDT en 1970; también se prefieren por su supuesta fácil biodegradación en comparación con los organoclorados. Actualmente, los inhibidores de acetilcolinesterasa (IsAChE) se usan como insecticidas contra los piojos y otros insectos (Houghton, Ren, & Howes, 2006; Scarpini, Scheltens, & Feldman, 2003) para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (M. Singh *et al.*, 2013), y con fines siniestros, como venenos y como agentes de guerra química (Pohanka, 2011), tales como los gases nerviosos de la serie G (sarín, somán, tabún, ciclosarín), los de la serie V (VX), y los agentes Novichok (totalmente indetectables y capaces de superar el equipo de protección química de la OTAN), todos considerados armas de destrucción masiva (Epstein *et al.*, 2009; Figueira-Mansur *et al.*, 2013).

Los IsAChE pueden interactuar en cualquier parte del sitio activo: por ejemplo, el gas nervioso sarín interactúa en el sitio esterático, la tacrina en el sitio α -aniónico, el decametonio interactúa en la garganta aromática, la huperzina y el propidio en el sitio periférico (β)-

aniónico (M. Singh *et al.*, 2013). Los insecticidas organofosforados se unen irreversiblemente al sitio esterático de la enzima, formando enlaces covalentes con el aminoácido serina del sitio activo, evitando la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, como consecuencia hay un aumento excesivo de acetilcolina en los receptores muscarínicos y nicotínicos, lo que conduce a períodos prolongados de excitación del nervio, parálisis y muerte (Casida & Durkin, 2013; Krämer & Ulrich, 2012). Esta es la causa de su elevada toxicidad en artrópodos y vertebrados.

El uso intensivo de insecticidas, junto con factores genéticos, ha generado poblaciones de insectos resistentes a varios insecticidas, poniendo en peligro el éxito de los programas de control de ellos (Casida & Durkin, 2013). La AChE es el objetivo principal de insecticidas organofosforados y carbamatos, es una enzima clave en el sistema nervioso de los insectos, para los que el sistema colinérgico es esencial, por eso es muy útil estudiar esta diana biológica durante el desarrollo de nuevos insecticidas. Se ha comprobado que la resistencia a los inhibidores de la AChE es debida a su alteración estructural por sustitución de una variedad de aminoácidos, causada por mutaciones en el gen que codifica su biosíntesis (Aiki, Kozaki, Mizuno, & Kono, 2005; Kim, Choi, Je, Koh, & Lee, 2010; Nabeshima *et al.*, 2004; Weill *et al.*, 2004).

En la actualidad, se considera que las librerías moleculares inspiradas en productos naturales son más eficientes y prometedoras en la búsqueda de agentes activos para el control de las plagas (Gerwick & Sparks, 2014). Los anillos quinolínicos son estructuras ubicuas, características de muchos productos alcaloidales, y son heterociclos privilegiados ampliamente presentes en la naturaleza.

4.4 Compuestos quinolínicos enlazados a triazoles

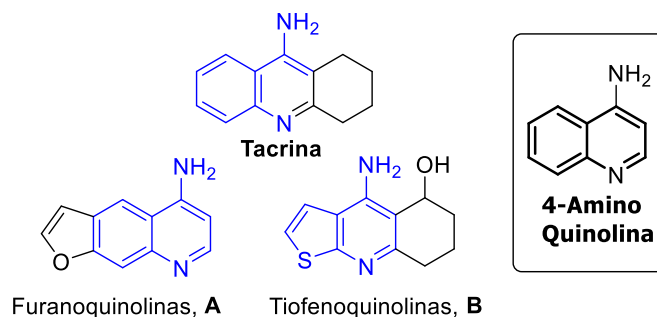
En general, las investigaciones sobre las quinolinas se centran principalmente, en su actividad antiparasitaria y anticancerígena, y a pesar de su alto potencial como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, y como insecticidas, aún no hay desarrollos científicos importantes sobre el su uso para el control de plagas.

Por eso, esta etapa de nuestra investigación se enfocaba en el estudio de las propiedades insecticidas y antialimentarias de nuevos híbridos quinolin-triazólicos, para generar una nueva clase de compuestos útiles, y ambientalmente más seguros para el control de una plaga que amenaza la seguridad alimentaria de Colombia.

Los alcaloides quinolínicos y los derivados sintéticos de este heterociclo, se han estudiado como agentes inhibidores reversibles de la acetilcolinesterasa (Konrath *et al.*, 2013); la tacrina (Figura 68), es uno de los compuestos más representativos, y fue introducida como medicamento por su capacidad de aliviar en las primeras etapas la enfermedad de Alzheimer (Leon, Garcia, & Marco-Contelles, 2013). Las furanoquinolinas (**A**) y tienoquinolinas (**B**) mostraron la capacidad de inhibir la AChE y la butirilcolinesterasa (BuChE) en ordenes de 10^{-7} molar, al igual que la tacrina (Marco *et al.*, 2002).

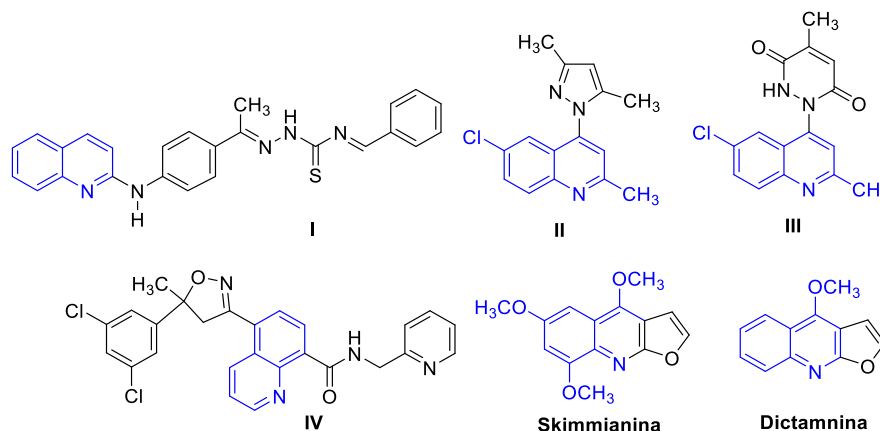
Figura 68.

Derivados de alcaloides quinolínicos y esqueleto de quinolina.



Hay unos pocos reportes de quinolinas con actividad insecticida. Una serie estructuralmente diversa de quinolinas fueron preparadas (Figura 69) de las cuales la 2-aminoquinolina **I** fue bastante eficaz contra los pulgones *Aphids gossipy*, plaga de las cosechas de algodón egipcio; este derivado fue investigado intensamente en los campos de *Syngenta Agro*. La 4-pirazolquinolina **II** y el derivado 4- dihidropiridazidínico **III** mostraron importantes actividades insecticidas frente a las larvas del picudo rojo (*Rhynchophorus ferrugineus*) que ataca los cultivares de palma datilera *Phoenix dactylifera* con CL_{50} de 0,499 y 0,664 ppm, respectivamente (Aly *et al.*, 2014). La quinolina **IV** presentó actividad frente a la polilla de la col *Plutella xylostella* con CL_{50} de 50 ppm (Ming Xu *et al.*, 2014).

Figura 69.

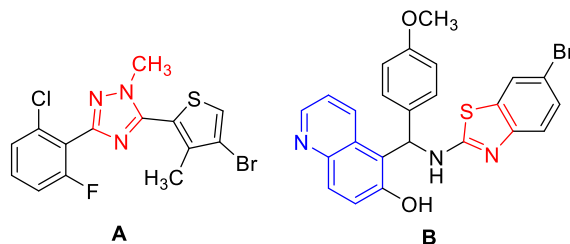
Quinolinas con actividad insecticida

Los alcaloides furoquinolinicos skimmianina y dictamnina se ensayaron para determinar los efectos sobre la alimentación y el crecimiento de larvas de *Spodoptera litura* y *Trichoplusia ni* (Sackett, Towers, & Isman, 2007) observándose que ambos causaron reducciones significativas en el crecimiento y el consumo de la dieta de ambas larvas.

En los últimos años, ha habido un número de solicitudes de patentes relacionada con la estructura de los 1,2,4-triazoles, por ejemplo un triazol **A** (Figura 70). Estos compuestos, desarrollados en Dow AgroSciences, presentan actividad reguladora del crecimiento, y un perfil de toxicidad “limpio” para los mamíferos, aunque se desconoce su mecanismo de acción (Hull *et al.*, 2009); variaciones en las sustituciones de los anillos han proporcionado los compuestos para controlar los pulgones, los ácaros y la mosca blanca (Cudworth *et al.*, 2007).

Figura 70.

Estructura de derivados enlazados a triazoles.



Al respecto con los derivados quinolínicos enlazados a triazoles; solo se ha reportado un trabajo en el que se estudió la actividad insecticida de las quinolinas enlazadas a benzotiazoles **B** (Figura 70); en este, se usó como modelo biológico el mosquito *Anopheles arabiensis* en estado adulto y larval (Venugopala *et al.*, 2013); el derivado **B** mostró alta actividad repelente comparable al DEET (compuesto usado como control positivo), y también alta actividad larvicida.

Objetivo general de esta etapa es evaluar la actividad insecticida de híbridos triazol-quinolinicos tipo TA-Qus en larvas de *Spodoptera frugiperda*, mientras que entre los objetivos específicos eran tantear la actividad insecticida como concentraciones letales (CL₉₅), y concentraciones letales medias (CL₅₀) de derivados de quinolin-triazólicos frente a larvas de *S. frugiperda* en cuarto instar, usando como compuesto de referencia el insecticida comercial metomil; establecer la actividad antialimentaria (IA%) de los derivados de la triazolquinolina y sus precursores frente a larvas de *S. frugiperda*, usando como compuesto de referencia la cipermetrina; valorar la actividad de los híbridos fusionados TA-Qus como inhibidores de la acetilcolinesterasa *in vitro* para establecer si este puede ser el mecanismo de acción de estas moléculas, y la

susceptibilidad de la enzima a los inhibidores, e implementar el modelo del pez cebra en estado embrionario para la evaluación de la toxicidad de los mejores insecticidas.

4.5 Diseño metodológico: Materiales, reactivos y equipos

Reactivos. Los reactivos para el ensayo de actividad insecticida y antialimentaria se utilizó acetona para análisis, Merck, Alemania (Emsure®), Cipermetrina mezcla de isómeros (94.3% de pureza), Sigma-Aldrich, Alemania (Pestanal®) y metomil.

Para el ensayo de actividad inhibitoria de AChE fueron Hidrógeno fosfato de sodio (98% de pureza) Alfa Aesar, Gran Bretaña (Alfa Aesar a Johnson Matthey Company). Hidrógeno fosfato di-potasio 3-hidratado (98% de pureza) Panreac, USA (Panreac Química S.L.U.). Cloruro de sodio (99.5% de pureza), J.T. Baker, México, (Mallinckrodt Baker S.A.). Tween® 20 para síntesis, Merck, Francia. Yoduro de acetiltiocolina ($\geq 98\%$ de pureza) (A5751; Sigma-Aldrich, UK). Ácido ditiobisnitrobenzoico (DTNB) (99% de pureza) (A14331-1G; Alfa Aesar, India). Acetilcolinesterasa del pez *Electrophorus electricus* (C3389-500UN, Sigma-Aldrich, USA). Galantamina Hidrobromuro (J62482; Alfa Aesar and Johnson Matthey Company, USA) (The right chemistry®). Agua grado HPLC. Para la preparación de las muestras se empleó como disolvente dimetilsulfóxido (99% de pureza) obtenido de Merck, Alemania.

Equipos. Los equipos utilizados fueron: balanza analítica (Mettler Toledo), lector de microplacas (Biochrom EZ 400 read), ultrasonido (Elma E 15), espectrofotómetro UV-Vis con

sonda de fibra óptica (Cary 60 UV-Vis, Agilent technologies) Estéreo-microscopio Stemi 200-C marca Zeiss con aditamento de una cámara para microscopia Axiocam ERA 5s.

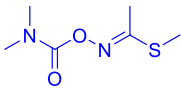
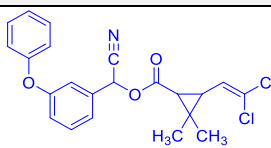
Software. Se utilizó el Software Galápagos Expert 1.1, el programa SPSS para Windows versión 19.0 y el Software Microsoft office 2010 (Word y Excel).

Bioensayos. En la actividad insecticida, los materiales usados fueron: transferpette (Brand) de 0.1-1, 10-100, 20-200 y 100-1000 μL , vasos de poliestireno de 207 mL, papel aluminio y eppendorf (brand) 1,5 y 2 mL, cajas de Petri; para la actividad antialimentaria se incluyó pinzas metálicas. La actividad enzimática se estudió por el método de microdilución en placas de 96 pocillos y se utilizó una transferpette multicanal (Brand) de 10-100 μL . Para el bioensayo de toxicidad en embriones de pez cebra *Danio rerio* se utilizó microplacas de 96 pocillos de fondo plano marca Brand, una transferpette multicanal (Brand) de 10-100 μL , una transferpette (Brand) de 2-20 μL .

Insecticidas de referencia. Los insecticidas de grado analítico se compraron de la única casa comercial que los distribuye en Colombia Sigma-Aldrich, y son los que se listan en la figura 71.

Figura 71.

Insecticidas comerciales usados en la investigación.

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
Metomil		Cipermetrina	

4.5.1 Preparación de los híbridos fusionados TA-Qus

(Pereira, Brandão, *et al.*, 2014): **a) Procedimiento para la obtención de la 4-azido-7-cloroquinolina (X).** A una solución de 4,7-dicloroquinolina (**IX**) (1,0 g, 5 mmol) en 3 mL de DMF anhidro y tamices moleculares A4, azida sódica (0,32 g, 5 mmol) se agregaron en una porción a temperatura ambiente. La mezcla resultante se dejó en agitación constante a temperatura ambiente por 12 h, cuando la TLC indicó la finalización de la reacción. Una vez finalizó la reacción, se lavó con una solución de salmuera (3 x 10 mL) y se extrajo con éter etílico (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad. El residuo del producto resultante se purificó por cromatografía en columna pequeña (silica gel) eluida con CH₂Cl₂/mezcla de hexano 1:1 para obtener el producto final puro como cristales incoloros en forma de aguja (1,8 g, 95 %); p.f. 115-116 °C (de CH₂Cl₂ / Hex); R_f = 0,29 (EtOAc / Hex 3: 7). **IR** v_{máx} (neat): 2125, 1568, 1490, 1421, 1305, 1278, 1203, 815 cm⁻¹. **¹H RMN** (CDCl₃) δ: 7.11 (1H, d, J = 4.8 Hz; 3-H); 7.46 (1H, dd, J = 8.8, 2.0 Hz; 6-H); 7.97 (1H, d, J = 8.8 Hz; 5-H), 8.04 (1H, d, J = 2.0 Hz; 8-H), 8.81 (1H, d,

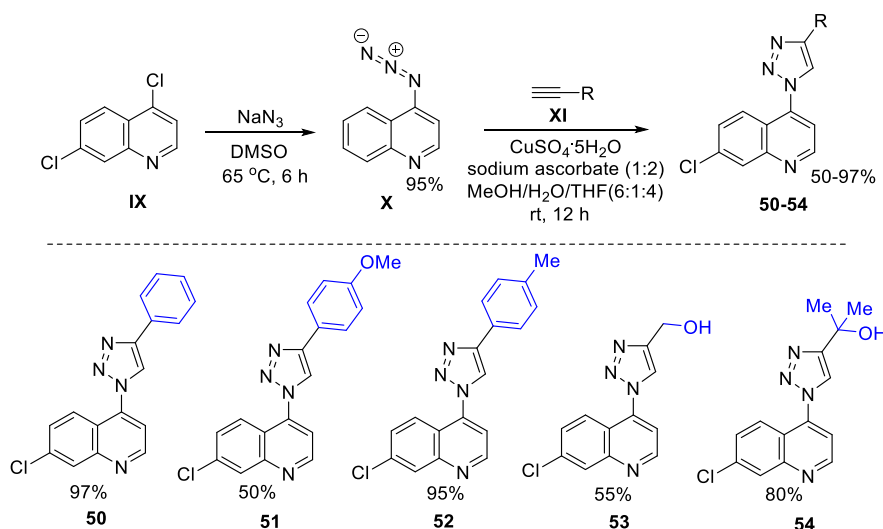
$J = 4.8$ Hz; 2-H) ppm. ^{13}C RMN (CDCl_3) δ : 108.7; 119.9; 123.7; 127.5; 128.1; 136.5; 146.3; 149.5; 151.2 ppm.

b) Síntesis de los derivados de 4-triazol-7-cloroquinolinas 50-54: En un balón fondo redondo se adicionó el 1.5 eq del alquino correspondiente **XI** en 9 mL de metanol, luego se agregó 1.0 eq de la 4-azido-7-cloroquinolina (**X**), 0.25 mmol de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y 0.50 mmol de ascorbato de sodio, se agitó por 5 minutos, luego se añadió 1.5 mL de agua destilada y 6 mL de tetrahidrofurano, se dejó en agitación constante a temperatura ambiente por 12 h. Una vez finalizó la reacción, se adicionó una solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio. Posteriormente de haber eliminado el solvente, se purificó el producto mediante cromatografía de columna utilizando como eluyente una mezcla de éter de petróleo/ acetato de etilo. Todos los compuestos sintetizados **50-54** fueron caracterizados por técnicas físicas y espectroscópicas: p.f., R_f , IR, ES y RMN.

7-Cloro-4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (50): Cristales blancos; 67%; p.f.: 157-158 °C. IR (KBr): 1606, 1597, 1562, 1483, 1234, 1022, 879, 767, 694 cm^{-1} . ^1H RMN (CDCl_3) δ : 7.26 (1H, t, $J = 7.4$ Hz; 4- H_{Ar}), 7.34 (2H, t, $J = 7.6$ Hz; 3,5- H_{Ar}), 7.40 (1H, d, $J = 4.6$ Hz; 3-H), 7.45 (1H, dd, $J = 9.1, 2.1$ Hz; 6-H), 7.79 (2H, d, $J = 7.8$ Hz; 2,6- H_{Ar}), 7.91 (1H, d, $J = 9.1$ Hz; 5-H), 8.096 (1H, d, $J = 2.4$ Hz; 8-H), 8.099 (1H, s, 5- H_{TA}), 8.92 (1H, d, $J = 4.6$ Hz; 2-H) ppm. ^{13}C RMN (CDCl_3) δ : 115.9, 120.6, 121.1, 124.6, 125.9 (2C), 128.8, 128.9, 129.1 (2C), 129.4 (2C), 136.9, 140.9, 148.5, 150.2, 151.4 ppm. P.M.: 306.75. EM, m/z: 306 (M^+). Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClN}_4$: C, 66.56; H, 3.61; N, 18.26. Encontrado: C, 66.85; H, 3.43; N, 18.01.

Figura 72.

Ruta de síntesis para la obtención de los híbridos TA-Qus.



7-Cloro-4-(4-(4-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (51): Cristales blancos; 47%; p.f.: 160-161 °C. **IR** (KBr): 1612, 1562, 1494, 1452, 1440, 1252, 1020, 875, 786, 678 cm^{-1} . **^1H RMN** (CDCl_3) δ : 3.86 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 7.00 (2H, d, $J = 8.8$ Hz; 3,5- H_{Ar}), 7.53 (1H, d, $J = 4.6$ Hz; 3-H), 7.59 (1H, dd, $J = 9.1, 2.1$ Hz; 6-H), 7.86 (2H, d, $J = 8.8$ Hz; 2,6-H), 8.07 (1H, d, $J = 9.1$ Hz; 5-H), 8.15 (1H, s, 5- H_{TA}), 8.23 (1H, d, $J = 2.1$ Hz; 8-H), 9.05 (1H, d, $J = 4.6$ Hz; 2-H) ppm. **^{13}C RMN** (CDCl_3) δ : 55.3, 114.4 (2C), 115.8, 120.3, 120.6, 122.0, 124.7, 127.3 (2C), 128.9, 129.4, 136.9, 141.0, 148.3, 150.1, 151.4, 160.1 ppm. P.M.: 336.78. **EM**, m/z: 336 (M^+). Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}$: C, 64.20; H, 3.89; N, 16.64. Encontrado: 64.35; H, 4.05; N, 16.36.

7-Cloro-4-(4-metilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (52): Cristales blancos; 97%; p.f.: 169-170 °C. **IR** (KBr): 1597, 1562, 1436, 1230, 1029, 1016, 877, 817 cm^{-1} . **^1H RMN** (DMSO-

δ 2.37 (3H, s, -CH₃), 7.34 (2H, d, $J = 7.9$ Hz; 3,5-H_{Ar}), 7.80 (1H, dd, $J = 9.1, 2.2$ Hz; 6-H), 7.89 (2H, d, $J = 8.1$ Hz; 2,6-H_{Ar}), 7.92 (1H, d, $J = 4.7$ Hz; 3-H), 8.16 (1H, d, $J = 9.1$ Hz; 5-H), 8.30 (1H, d, $J = 2.1$ Hz; 8-H), 9.18 (1H, d, $J = 4.7$ Hz; 2-H), 9.26 (1H, s, 5-H_{TA}) ppm. ¹³C RMN (DMSO-d₆): δ 20.8, 116.7, 120.1, 123.1, 125.4 (2C), 125.6, 126.9, 128.0, 128.9, 129.5 (2C), 135.5, 137.9, 140.4, 147.1, 149.4, 152.3 ppm. P.M.: 320.78. EM, m/z: 320 (M⁺). Calculado para C₁₈H₁₃ClN₄: C, 67.40; H, 4.09; N, 17.47. Encontrado: C, 67.78; H, 4.23; N, 17.25.

1-(7-Cloroquinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metanol (53): Cristales blancos; 55%; m.f.: 164-165 °C. IR (KBr): 3257, 1612, 1591, 1440, 1230, 1058, 1033, 879, 844 cm⁻¹. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ : 4.71 (2H, d, $J = 5.4$ Hz, -CH₂-), 5.44 (1H, t, $J = 5.6$ Hz; -OH), 7.77 (1H, dd, $J = 9.1, 2.2$ Hz; 6-H), 7.82 (1H, d, $J = 4.7$ Hz; 3-H), 8.02 (1H, d, $J = 9.1$ Hz; 5-H), 8.26 (1H, d, $J = 2.2$ Hz; 8-H), 8.69 (1H, s, 5-H_{TA}), 9.13 (1H, d, $J = 4.7$ Hz; 2-H) ppm. ¹³C RMN (DMSO-d₆) δ : 54.8, 116.8, 120.3, 124.9, 125.4, 128.0, 128.8, 135.2, 140.5, 148.8, 149.3, 152.3 ppm. P.M.: 260.68. EM, m/z: 260 (M⁺). Calculado para C₁₂H₉ClN₄O: C, 55.29; H, 3.48; N, 21.49. Encontrado: C, 55.45; H, 3.66; N, 21.21.

2-(1-(7-Cloroquinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)propan-2-ol (54): Cristales blancos; 91%; m.f.: 148-149 °C. IR (KBr): 3356, 2978, 1612, 1595, 1564, 1438, 1238, 1168, 879, 821 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃) δ : 1.78 (6H, s, (-CH₃)₂), 3.05 (1H, s, -OH), 7.48 (1H, d, $J = 4.6$ Hz; 3-H), 7.56 (1H, dd, $J = 9.1, 2.1$ Hz; 6-H), 7.96 (1H, s, 5-H_{TA}), 7.99 (1H, d, $J = 9.1$ Hz; 5-H), 8.21 (1H, d, $J = 2.1$ Hz; 8-H), 9.02 (1H, d, $J = 4.6$ Hz; 2-H) ppm. ¹³C RMN (CDCl₃) δ : 30.5 (2C), 68.7, 115.9, 120.5, 121.2, 124.6, 128.9, 129.3, 136.9, 141.0, 150.1, 151.3, 156.5 ppm. P.M.: 288.74 g/mol. EM,

m/z: 288 (M^+). Calculado para $C_{14}H_{13}ClN_4O$: C, 58.24; H, 4.54; N, 19.40. Encontrado: C, 58.39; H, 4.76; N, 19.18.

4.5.2 Bioensayos

Ensayo de actividad insecticida. Todos los compuestos se evaluaron por aplicación tópica (S. J. Yu, 2008) en larvas de peso 500 ± 50 mg, a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ de humedad relativa y un fotoperiodo de 14:10 horas (Ahmad, Saleem, & Sayyed, 2009). Como compuesto de referencia se usó metomil.

Se prepararon soluciones en acetona de todos los compuestos en concentraciones seriadas de 2500 a 100 $\mu\text{g/mL}$ (Abbassy, Abdelgaleil, & Rabie, 2009; El-Guindy, Abdel-Sattar, & El-Refai, 1983). Una vez seleccionado el grupo (10 larvas por grupo), se dispusieron en cajas Petri (una larva por caja para evitar canibalismo) y seguidamente se aplicó en el dorso de la larva 1 μL de la solución, dejando evaporar el disolvente por 30 segundos. Las larvas se colocaron en vasos desechables, un vaso por larva, con suficiente maíz como alimento, y debidamente tapados para evitar iluminación. Se realizaron triplicados, por concentración a ensayar, en semanas diferentes, y para el control se empleó acetona.

El porcentaje de mortalidad (%) (ecuación 1) obtenido se analizó a partir de las 2, 4, 6, 8, 24, 48 y 72 horas posteriores al tratamiento considerando como muerta aquella larva que no respondió a leves punzadas (Pavela & Vrchotová, 2013). Finalmente, la concentración letal a la

cual muere el 50% de la población (CL_{50}) se calculó a partir de la ecuación logarítmica de la gráfica de correlación lineal entre porcentaje de mortalidad (% mortalidad).

Ensayo de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. Se empleó el método propuesto por Ellman (Ellman et al., 1961), para ello se realizaron concentraciones seriadas de los compuestos a probar, desde 1×10^{-3} M hasta 4.88×10^{-7} M. El compuesto de referencia usado fue el insecticida metomil, y para validar el método se usó galantamina.

El ensayo se realizó en una microplaca de 96 pocillos con un volumen final de 200 μ L. Se colocaron 100 μ L de una solución con compuesto de referencia a probar en concentraciones seriadas (las mencionadas anteriormente) disueltos en buffer fosfato salino (PBS) de pH 7.5, se adicionó a cada pocillo 50 μ L de la AChE (0.25 U/mL). La reacción se dejó transcurrir durante 30 minutos y se le adicionó 100 μ L de la solución sustrato de pH 7.5, la cual estaba compuesta de 0.142 g de Na_2HPO_4 (0.04 M), 0.002 g de ácido 2,2'-dinitro-5,5'-ditiobenzoico (0.2 mM) y 0.0018 g yoduro de acetiltiocolina (0.24 mM). Transcurridos cinco minutos del inicio de la reacción se leyó la absorbancia a 405 nm, en un lector de microplacas.

Ensayo de actividad antialimentaria. Para este bioensayo se usaron con larvas de *S. frugiperda* de peso promedio 500 ± 50 mg se utilizaron cinco soluciones con concentraciones seriadas de 1000 a 50 μ g/mL y un control de acetona, como compuesto de referencia se utilizó cipermetrina. El ensayo fue realizado bajo condiciones de laboratorio, a una temperatura de 25 ± 2 °C, una humedad relativa de $65 \pm 5\%$, y un fotoperiodo de 14:10 horas (Pilla D'Incao et al., 2012; Simmonds et al., 1996).

Los compuestos en estudio se prepararon en 1 mL de acetona y se incorporaron 100 μ L a un disco del fruto del maíz de peso promedio 400 ± 50 mg. Al control se le adicionó 100 μ L de acetona en el disco de maíz (El-Aswad, Abdelgaleil, & Nakatani, 2004). Las larvas seleccionadas para el bioensayo se almacenaron en recipientes individuales sin alimento durante las seis horas previas al bioensayo; transcurrido el tiempo se les proporciono el disco de maíz con el compuesto a evaluar. Se utilizaron diez larvas para cada concentración, el alimento se pesó a intervalos de 24 horas durante 72 horas y se calculó el porcentaje de índice antialimentario (% IA) (Chorus & Bartram, 1999)(y la concentración efectiva media (CE_{50}).

Ensayo de toxicidad empleando el modelo embrionario del pez cebra. Especímenes adultos del pez cebra (*Danio rerio*), de ambos sexos y de tipo salvaje, fueron separados en dos tanques de acuerdo a su género a 26 ± 2 °C bajo fotoperiodos naturales de luz y oscuridad. Los peces fueron alimentados dos veces por día y la calidad del agua fue monitoreada semanalmente, con el fin de adaptar a los peces a estas condiciones por dos semanas, antes de iniciar los experimentos. Para la reproducción de los peces adultos, pequeños tanques de apareamiento fueron acondicionados en la tarde previa al experimento, donde en cada uno de estos tanques se ubicaron tres machos y una hembra. Estos tanques fueron aislados, sin ninguna perturbación de ruido o luz, hasta la mañana siguiente, cuando el apareamiento natural ocurrió (Ali, van Mil, & Richardson, 2011).

Los peces adultos fueron reintegrados a sus respectivos tanques y los embriones fueron recolectados, lavados dos veces con medio E3 (el medio E3 es el buffer de Holtfreter y está

compuesto de 5 mM NaCl, 0.17 mM KCl, 0.4 mM CaCl₂ y 0.16 mM MgSO₄), y transferidos a una caja Petri. Los embriones fueron examinados periódicamente a través de un microscopio de disección con el fin de remover aquellos embriones muertos, no fertilizados, malformados o retrasados en su desarrollo. Durante este periodo, los embriones fueron mantenidos en una incubadora a 28 ± 2 °C bajo fotoperiodos naturales de luz y oscuridad. Los embriones seleccionados a 24 horas posteriores a la fertilización (hpf) fueron transferidos cuidadosamente desde la caja Petri a una microplaca de 96 pozos, ubicando un embrión y 200 µL de medio E3 por pozo.

Determinación de la CL₅₀ en embriones del pez cebra. Para este experimento, se emplearon 72 embriones, en total, para evaluar la toxicidad del derivado **52** con el fin de realizar tres experimentos independientes en tres diferentes placas, donde en cada una de ellas cada extracto fue evaluado tres veces en cada placa. En cada placa se evaluó una serie geométrica de concentraciones, iniciando en 300 y finalizando en 4.68 µg/mL. Finalmente, la determinación de la CL₅₀ se basa en la mortalidad acumulada, la cual fue monitoreada en un microscopio de disección a 72 horas después de la exposición química (96 hpf) y el análisis estadístico se realizó mediante el análisis de la Regresión Probit con el programa SPSS para Windows versión 19.0. Los datos se expresan con el error estándar de la media de los tres experimentos realizados en triplicado.

4.6 Resultados y discusión

4.6.1 Síntesis de los derivados triazol-quinolinicos 50-54.

Los híbridos TA-Qus **50-54** se obtuvieron con rendimientos superiores al 47%. En la En las figuras 73 y 74 se puede observar los detalles descritos para el híbrido **50** con fragmento arílico presente en el anillo de triazol, mientras que las [Error! No se encuentra el origen de la referencia.74](#) y 75 muestran los cuadros característicos para el híbrido **53** que contiene cadena hidroximetilo del triazol.

Tabla 16 se observan las propiedades físicas determinadas para cada compuesto. Son sustancias incoloras, estables con el punto de fusión bien definido. Las moléculas obtenidas fueron purificadas fácilmente usando la cromatografía en columna (silica gel). Las estructuras y la pureza de los productos obtenidos se confirmaron por las técnicas espectroscópicas comunes (IR, RMN y EM).

La información más completa de las estructuras de los híbridos **50-54** se obtuvo usando la resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C RMN. En general, las características de los espectros de ^1H RMN son muy similares presentándose las señales de los protones de cada fragmento heterocíclico, - quinolin-4-ilo 7-cloro sustituido y 1*H*-1,2,3-triazol-1-ilo 4-sustituido. Los desdoblamientos claros permiten asignar todos los protones aromáticos.

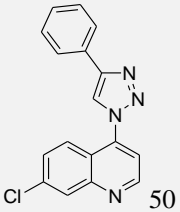
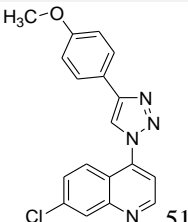
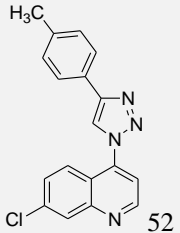
El singlete del protón C-5 del triazol aparece en zona 8.03-8.30 ppm lo que indica directamente la formación del ciclo del triazol 1,4-disustituido lo cual, a su vez, confirma la regioselectividad excelente de la CuAAC reacción. Los espectros de ^{13}C RMN de estos híbridos

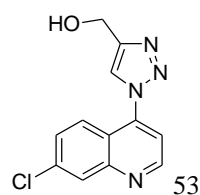
indicaron el número carbonos presentes en la molécula, corroborando la naturaleza de dichos núcleos mediante su ubicación en las distintas regiones del espectro.

En las figuras 73 y 74 se puede observar los detalles descritos para el híbrido **50** con fragmento arílico presente en el anillo de triazol, mientras que las **74** y **75** muestran los cuadros característicos para el híbrido **53** que contiene cadena hidroximetilo del triazol.

Tabla 16.

Propiedades fisicoquímicas de los híbridos obtenidos 50-54.

Comp.	PM (g/mol)	Estado/Color	p.f (°C)	R _f	Rto, %
 50	$C_{17}H_{11}ClN_4$ 306.75	Sólido, Blanco	149-150	R_f 0.50 Hex:AcOEt 3:1	67
 51	$C_{18}H_{13}ClN_4O$ 336.08	Sólido, Blanco	173-174	R_f 0.50 Hex:AcOEt 1:5	50
 52	$C_{18}H_{13}ClN_4$ 320.78	Sólido, Blanco	147-148	R_f 0.50 Hex:AcOEt 1:5	97

C₁₂H₉ClN₄O

Sólido, Blanco

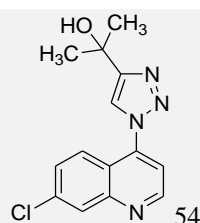
164-165

R_f 0.60

55

260.68

Hex:AcOEt 2:1

C₁₄H₁₃ClN₄O

Sólido, Blanco

167-168

R_f 0.46

91

288.73

Hex:AcOEt 1:3

En el espectro de ¹H RMN del compuesto **53** se aprecian las señales correspondientes a los diversos grupos de protones presentes en la molécula: comenzando desde campos altos a campos bajos, se ubica la señal del grupo metilénico (HO-CH₂-TA) enlazado al grupo hidroxilo y al triazol a 4.71 ppm, mientras se encuentra una señal a 5.44 ppm correspondiente al grupo hidroxilo. Los protones aromáticos de los dos anillos se encuentran en la región comprendida entre 7.77-9.13 ppm. En su espectro de ¹³C RMN se observa claramente la señal a 54.8 ppm correspondiente al único carbono alifático (figura 76).

El análisis funcional comparativo de los espectros de IR de estos híbridos puede ayudar a determinar sus estructuras identificando los grupos funcionales más características. Por ejemplo, el espectro infrarrojo del híbrido **52** presenta las bandas típicas de los compuestos heteroaromáticos (1597, 1562, 1436, 1230, 1029, 1016, 877, 817 cm⁻¹), mientras que en el espectro infrarrojo del híbrido **54** se encuentran las bandas adicionales, propias a los alcoholes (3356 y 1168 cm⁻¹). La

banda ancha a 3356 cm^{-1} es típica de la tensión del enlace O-H que forma puentes de hidrógeno y la señal menos intensiva a 1168 cm^{-1} se debe a la tensión del enlace C-O.

Figura 73.

Espectro de ^1H RMN (CDCl_3) de la 7-cloro-4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (50).

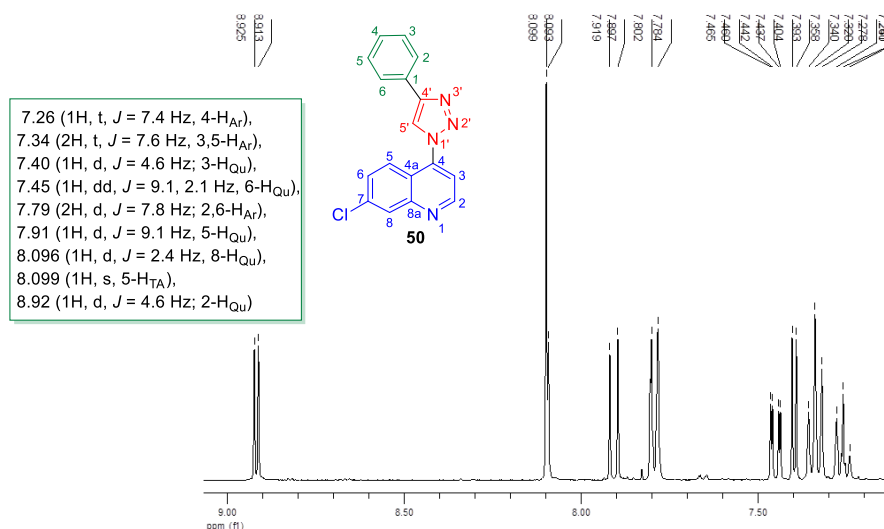


Figura 74.

Espectro de ^{13}C RMN (CDCl_3) de la 7-cloro-4-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (50).

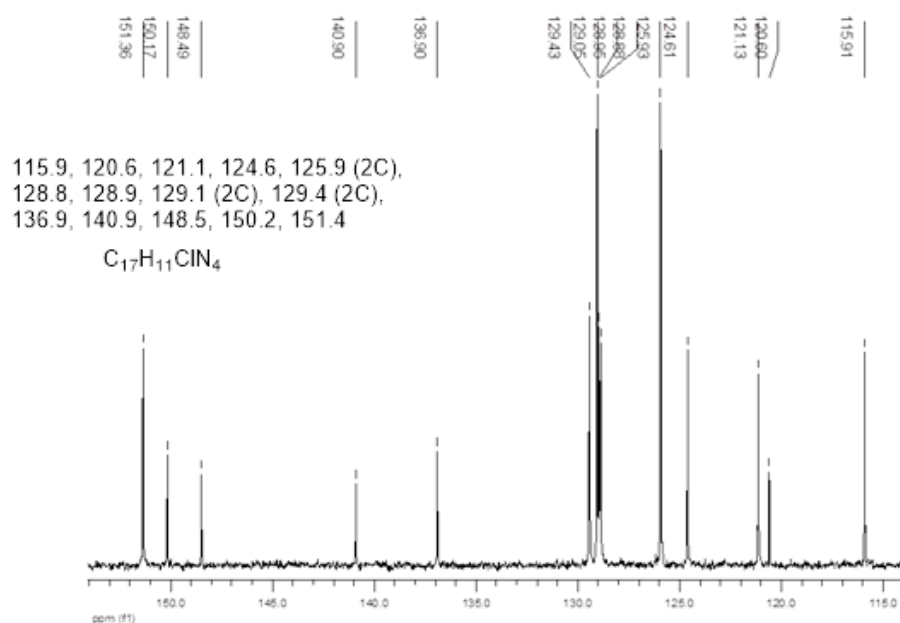


Figura 75.

A. Espectro de ^1H RMN (DMSO- d_6) del (1-(7-cloroquinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metanol (53); B. Zona aromática del espectro del 53.

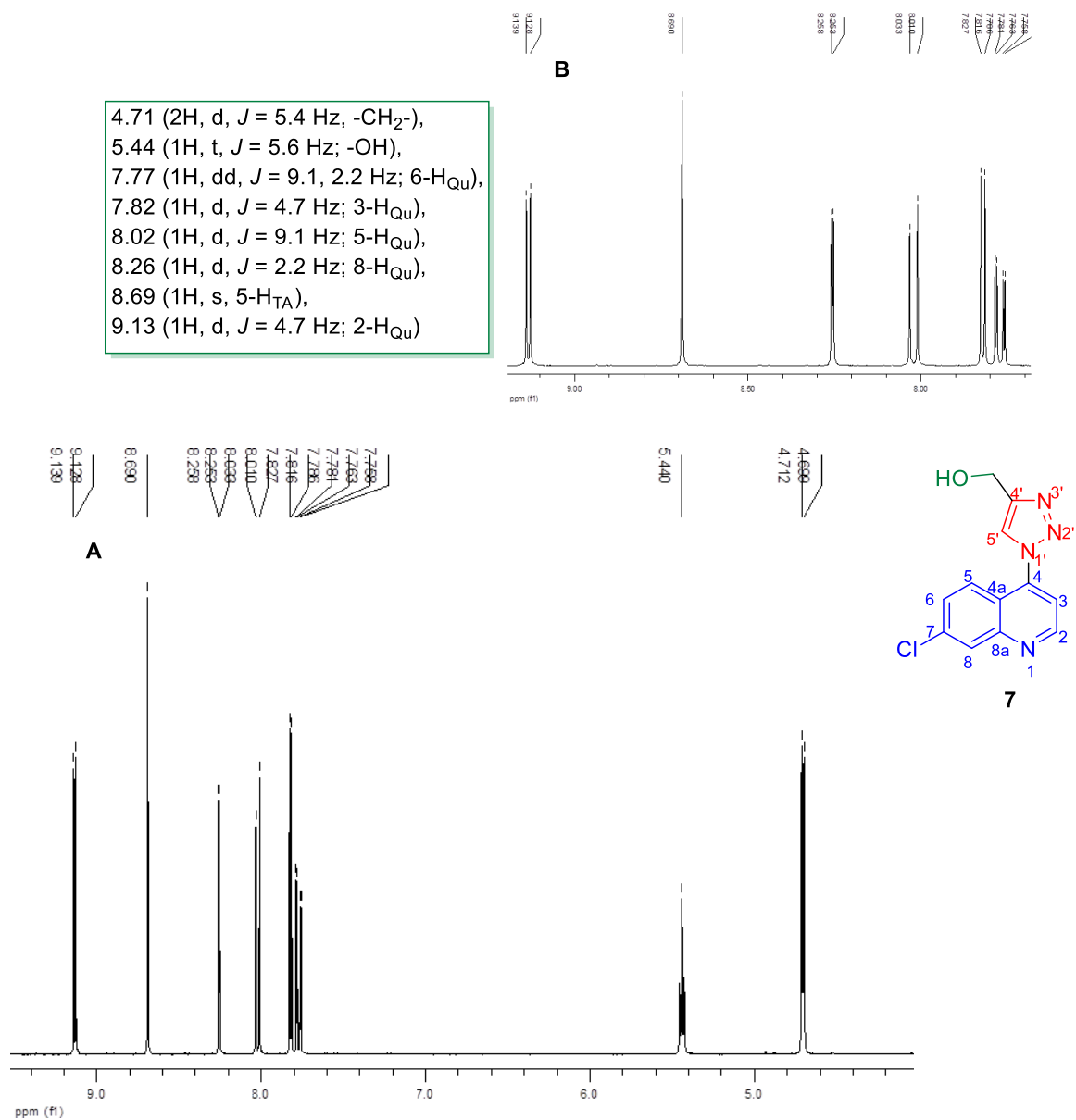


Figura 76.

Espectro de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) del (1-(7-cloroquinolin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metanol (53).

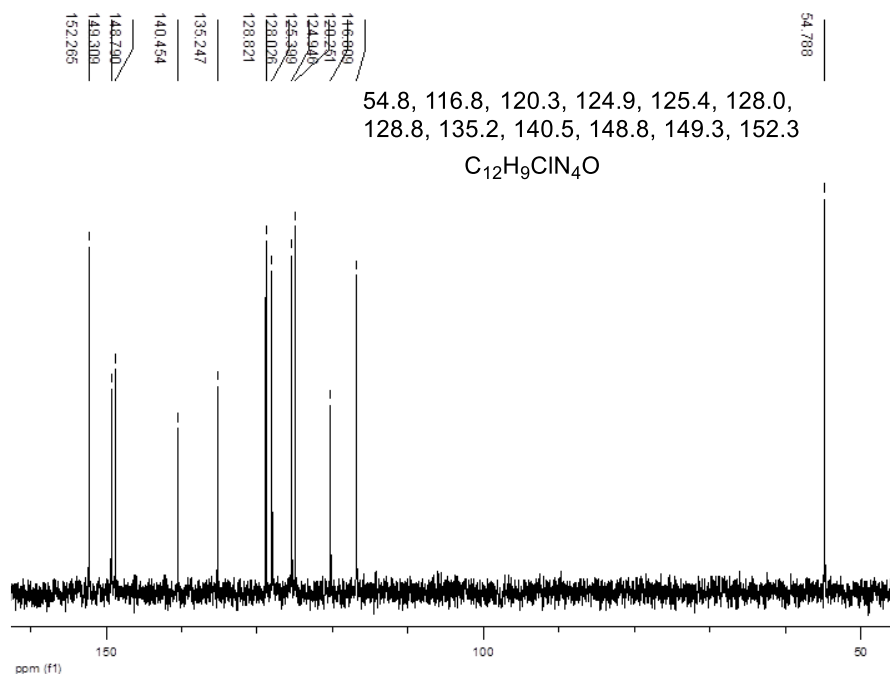
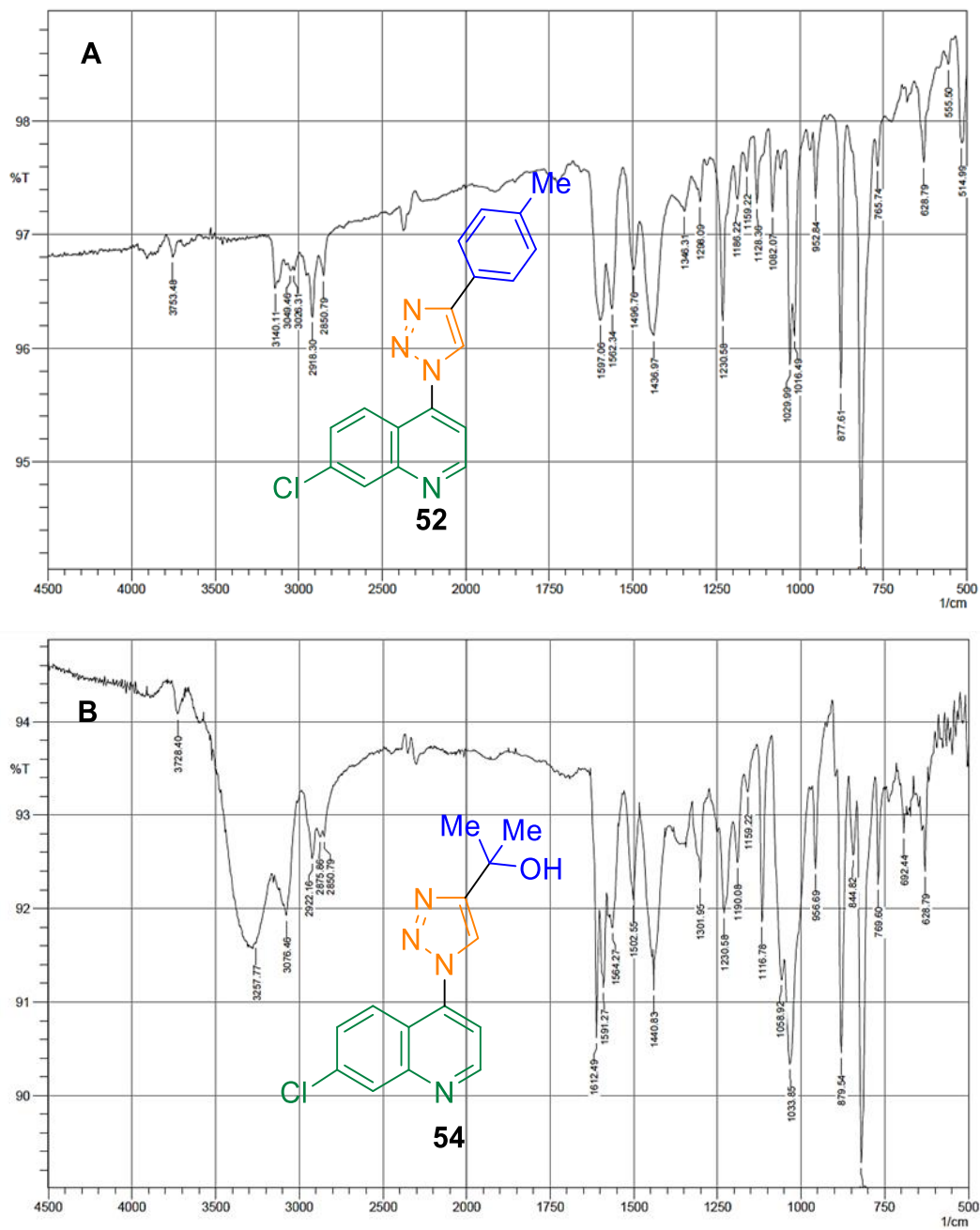


Figura 77.

Espectro infrarrojo de los compuestos obtenidos: A. IR del híbrido 53; B. IR de híbrido 54



4.6.2 Bioensayo de actividad insecticida

Se llevó a cabo la recolección de las larvas de *S. frugiperda* en la plaza de mercado central de la ciudad. Las larvas se transportaron al laboratorio en un recipiente plástico con suficiente alimento para evitar canibalismo; posteriormente se dispusieron en recipientes plásticos, una larva por recipiente y se les adicionó suficiente comida (maíz dulce fresco); se almacenaron en oscuridad hasta ser utilizadas en los diferentes bioensayos. El 10% de los animales colectados fueron enviados al ICA para su caracterización taxonómica.

Figura 78.

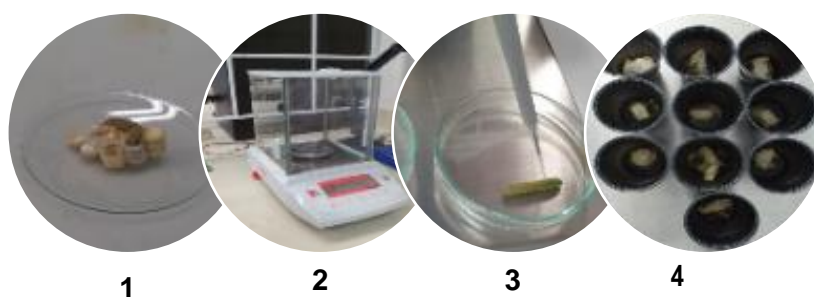
Material biológico para bioensayos. Fuente: investigación propia.



Se seleccionaron grupos de 10 larvas, previamente pesadas (500 ± 50 mg); el ensayo se mantuvo a temperatura de 25 ± 2 °C, y $65 \pm 5\%$ de humedad relativa y un fotoperiodo de 14:10 (Abbassy et al., 2009). En la figura 79 se observan los pasos mencionados.

Figura 79.

Metodología de actividad insecticida en Spodoptera frugiperda; 1. Larva cogollero del maíz S. frugiperda; 2. Determinación del peso de la larva (500 ± 50 mg); 3. Aplicación de compuesto en estudio y 4. Almacenamiento de larvas con tratamiento.



Para el montaje del bioensayo de actividad insecticida se usó como compuesto de referencia el insecticida metomil; el % de mortalidad se calculó con la figura 80.

Figura 80.

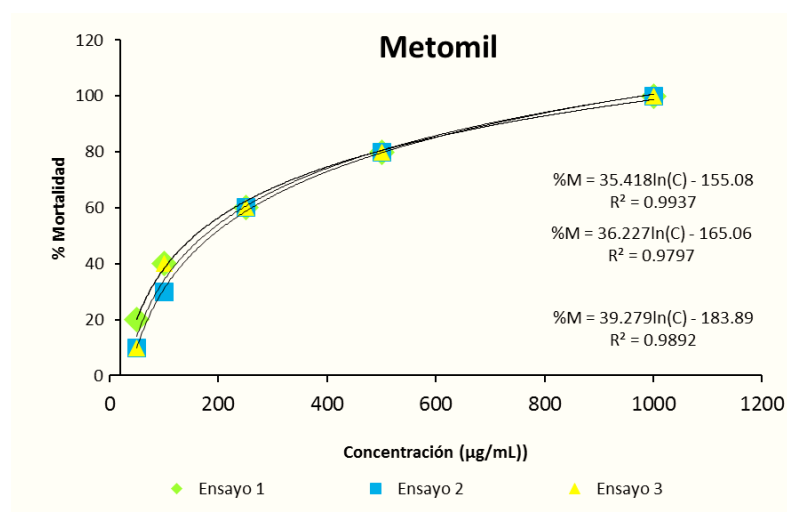
Ecuación de porcentaje de mortalidad (% mortalidad).

$$\% \text{ Mortalidad} = \left(\frac{\text{Total larvas muertas}}{\text{Total de larvas}} * 100 \right)$$

A partir de ecuación de la curva % de Mortalidad vs Concentración se determinó una CL_{50} = 172.4 $\mu\text{g/mL}$ (6.00×10^{-4} M) . Este valor de toxicidad es comparable al reportado previamente en la literatura: CL_{50} de 124.40 $\mu\text{g/mL}$ (4.33×10^{-4} M) (Abbassy et al., 2009); la variación que se observan en los resultados se puede deber al tipo de procedencia del insecto, su peso, las condiciones ambientales usado en el ensayo, y la resistencia a este insecticida.

Figura 81.

Curva dosis-respuesta de porcentaje de mortalidad de metomil frente a S. frugiperda



Este pesticida ha sido ampliamente utilizado para el control del cogollero del maíz (Yutthapong *et al.*, 2008). Se ha reportado efectos sobre la mortalidad de los huevos y la fertilidad de los mismos. También, se ha reportado resistencia al insecticida, pero se ha presentado de forma lenta y progresiva, más aún se han reportado concentraciones de hasta 380.01 ppm para el control del *S. frugiperda* en cultivos de maíz (Rattanapan et al., 2006).

De la misma forma que para el metomil, se realizó el estudio de la actividad insecticida de los derivados quinolin-triazólicos **50 - 54**. Para los derivados se probaron concentraciones desde 2500 hasta 100 ppm. En la figura 82 se muestran las gráficas obtenidas para todos los compuestos, y en la Tabla 17 se recogen los resultados para las concentraciones letales medias para todos los compuestos en estudio.

Los resultados obtenidos muestran que los compuestos evaluados tiene un efecto insecticida sobre las larvas de *S. frugiperda*, destacándose el híbrido **52** (7-cloro-4-(4-metilfenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)quinolina) que exhibió un buen valor de concentración letal media ($CL_{50} = 327,1 \mu\text{g/mL}$) ya que para metomil el mismo parámetro era $CL_{50} = 172,4 \mu\text{g/mL}$. Los análogos más cercanos del **52** (híbridos **50** y **51**) mostraron la disminución notoria de la actividad insecticida ($CL_{50} = 996,9$ y $1415,4 \mu\text{g/mL}$, respectivamente). Los híbridos con las cadenas hidroxialquílicas (comp. **53** y **54**) mostraron también el nivel bajo de la actividad insecticida ($CL_{50} = 843,5$ y $903,5 \mu\text{g/mL}$, respectivamente).

Figura 82.

Gráficas de las curvas % de mortalidad vs concentración para los compuestos objeto de estudio.

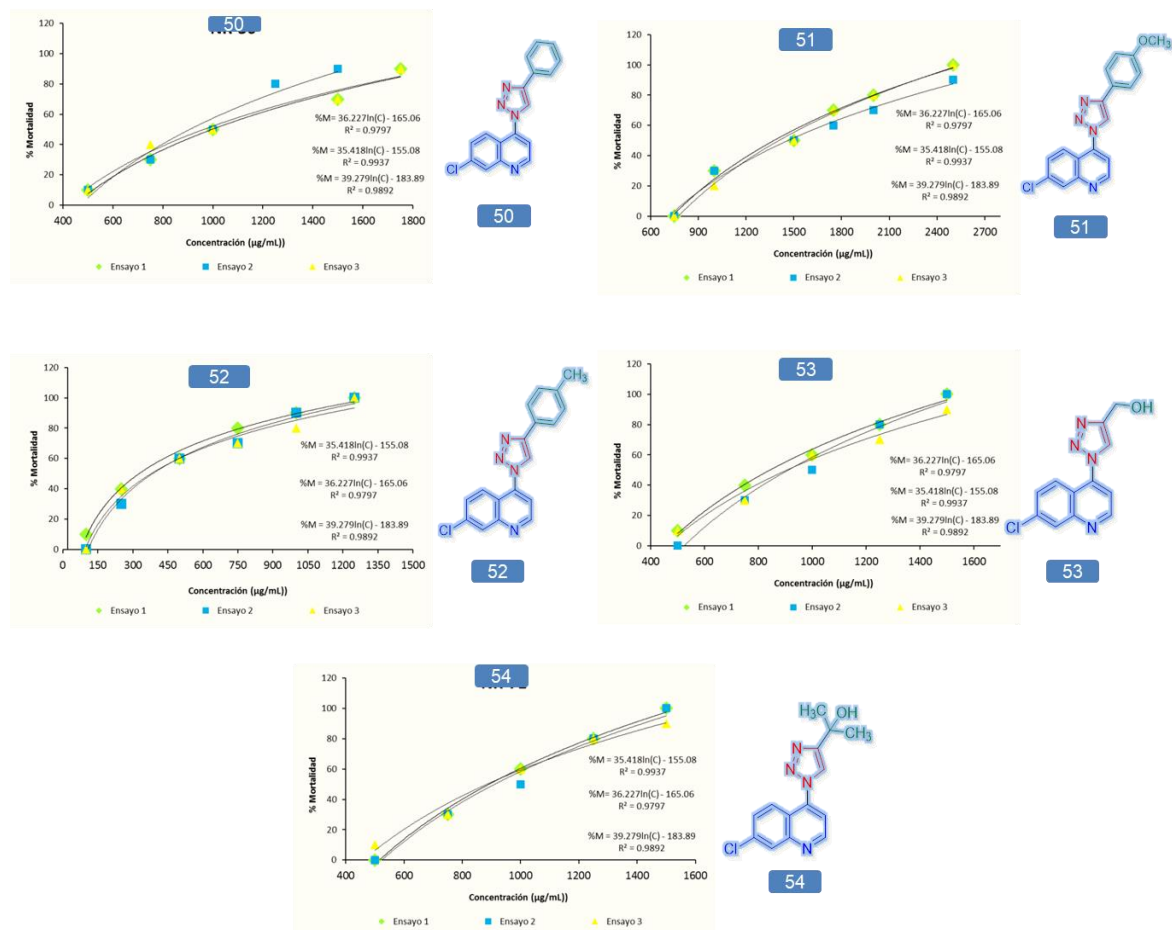


Tabla 17.

Valores de CL_{50} y CL_{95} para los compuestos derivados triazol-quinolinicos 50-54.

Actividad insecticida de los compuestos objeto de estudio

Comp.	CL_{50} (LI-LS)* (µg/mL)	CL_{50} (LI-LS)* (M)	CL_{95} (LI-LS)* (µg/mL)	CL_{95} (LI-LS)* (M)	X^2	p
50	996.9 (924.3-998.1)	3.13×10^{-3} (3.01×10^{-3} - 3.25×10^{-3})	1994.6 (1858.6-2130.5)	6.50×10^{-3} (6.06×10^{-3} - 6.95×10^{-3})	0.98	0.99

51	1415.4 (1370.5-1460.3)	4.21×10^{-3} (4.08×10^{-3} - 4.35×10^{-3})	2381.9 (2172.3-2591.5)	7.09×10^{-3} (6.46×10^{-3} - 7.71×10^{-3})	0.97	0.99
52	327.1 (331.8-395.7)	1.13×10^{-3} (1.03×10^{-3} - 1.23×10^{-3})	1229.6 (1155.2-1304.0)	3.83×10^{-3} (3.60×10^{-3} - 4.06×10^{-3})	0.92	0.96
53	843.5 (887.3-849.3)	3.41×10^{-3} (3.27×10^{-3} - 3.56×10^{-3})	1552.7 (14410-1664.4)	5.97×10^{-3} (5.54×10^{-3} - 6.40×10^{-3})	0.99	0.99
54	903.5 (893.3-913.7)	3.13×10^{-3} (3.09×10^{-3} - 3.16×10^{-3})	1546.6 (1428-1664.7)	5.36×10^{-3} (4.95×10^{-3} - 5.77×10^{-3})	0.99	0.99
Metomil	172.4 (156.6-188.4)	6.00×10^{-4} (5.45×10^{-4}- 6.54×10^{-4})	839.9 (815.7-864.1)	2.92×10^{-3} (2.84×10^{-3}- 3.01×10^{-3})	0.85	0.92

*LI: límite inferior; LS: límite superior.

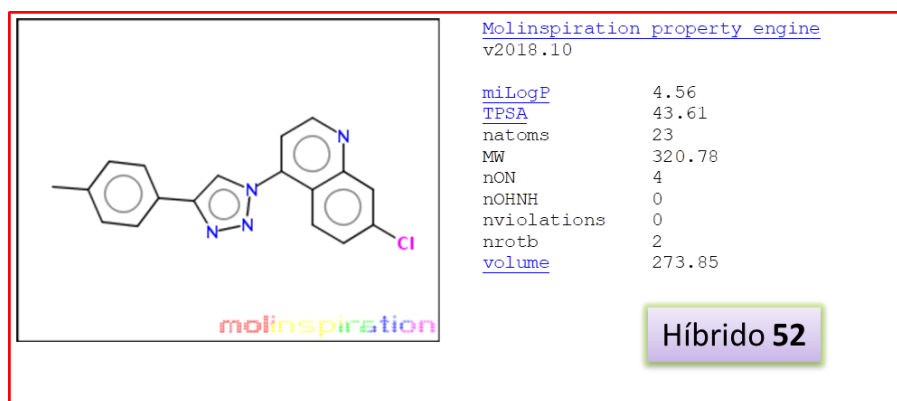
Hoy en día, la evaluación inicial de un potencial compuesto bioactivo comienza con el análisis de sus propiedades fisicoquímicas las cuales se obtienen fácilmente utilizando softwares de tecnología web. *In silico* estudio es una herramienta útil en el diseño y desarrollo de los nuevos agentes biológicos y también es útil en la etapa del estudio de mecanismo de acción y refinamiento de la estructura del compuesto-líder.

En esta etapa de investigación, se calcularon algunos descriptores más importantes para este tipo de investigaciones: peso molecular (PM), lipofilidad medida como el coeficiente de partición octanol/agua (cLog P), número de aceptores de enlaces de hidrógeno (NAEH), número de dadores de enlaces de hidrógeno (NDEH), el número de enlaces rotables (NER) y el área superficial polar molecular (PSA- *topological polar surface area*). Estos últimos se conocen como parámetros de Lipinskii que se usan a menudo para predecir la biodisponibilidad oral de una molécula bioactiva (Butina *et al.*, 2002; Lipinski *et al.*, 2001).

Aunque el descubrimiento de agroquímicos tiene características únicas debido a la biodiversidad de las plagas y las condiciones de uso, en general, se puede usar los parámetros mencionados también en las etapas de generación y optimización de los nuevos agroquímicos, incluidos los insecticidas. Entonces, empleando el software Molinspiration* se obtuvieron los siguientes parámetros de PM, cLogP, NAEH, NDEH, NER y PSA para cada una de las moléculas (Figura 83A,B Tabla 18). Como ejemplo, la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** muestra los resultados obtenidos del software Molinspiration para los híbridos **52** y **53**.

Figura 83A.

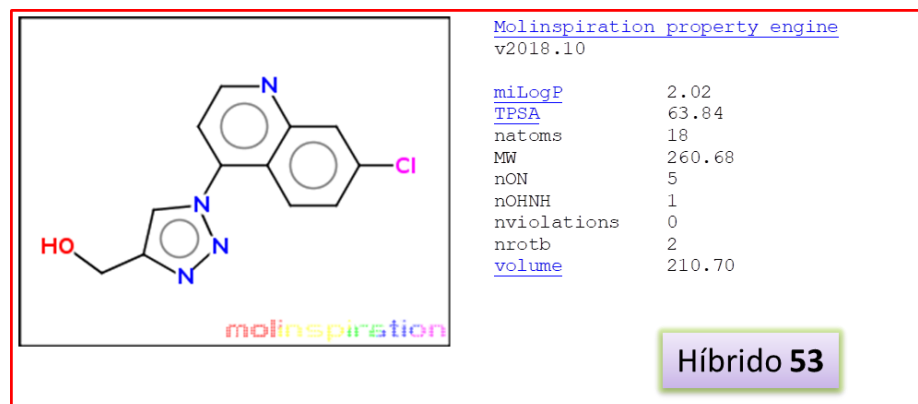
Presentación de los resultados obtenidos del software Molinspiration, parámetros del híbrido 52.



*MolinspirationCheminformatics. [En: http://www.molinspiration.com/](http://www.molinspiration.com/).

Figura 83B.

Presentación de los resultados obtenidos del software Molinspiration, parámetros del híbrido 53.



Al analizar los principales descriptores moleculares de estos híbridos y metomilo, no es difícil observar que el metomilo, una molécula pequeña, insecticida fuerte ($CL_{50} = 172,4 \mu\text{g/mL}$), presenta un carácter hidrofílico ($c\text{LogP} = 0,75$), mientras que el híbrido **52**, el mejor insecticida ($CL_{50} = 327,1 \mu\text{g/mL}$) es la mejor molécula lipofílica de esta serie ($c\text{LogP} = 4,56$). Además, el híbrido **53** con propiedades insecticidas débiles ($CL_{50} = 843,5 \mu\text{g/mL}$) posee un carácter hidrofílico similar ($c\text{LogP} = 2,02$) al del metomilo. Aquí, se debe hacer el siguiente comentario: aplicadas tópicamente en larvas, las moléculas deben penetrar en la cutícula, un tegumento protector, que salvaguarda las superficies internas y externas de los insectos. Como el integumento del insecto se puede considerar una estructura de dos fases, con capas lipofílicas (epi- y exo-cutículas que contienen lípidos, lipoproteínas y proteínas) e hidrofílicas (endo- cutículas, una quitina-proteína), ambas moléculas lipofílicas (híbridos **50-54**) y los compuestos hidrofílicos (metomilo) en general, pueden pasar a través de esta barrera bioquímica activa a la hemolinfa para alcanzar dianas específicas.

Tabla 18.

Resultados de los parámetros calculados usando software Molinspiration.

Comp.	PM	cLogP	NDEH	NAEH	NER	TPSA (Å ²)
50	306.76	4.11	4	0	2	43.61
51	336.78	4.17	5	0	3	52.84
52	320.782	4.56	4	0	2	43.61
53	260.68	2.02	5	1	2	63.84
54	288.74	2.83	5	1	2	63.84
Met. ^a	162.21	0.75	4	1	3	50.70

^aMet. - Metomilo

Por lo tanto, la actividad insecticida de una molécula es el resultado de una serie de interacciones múltiples entre el compuesto y los tejidos de un insecto, donde la penetración es un paso inicial e importante, pero aún poco estudiado. Sobre estas bases, la situación es más compleja en las correlaciones de relaciones estructura-actividad. Además de estos parámetros mencionados arriba, la actividad insecticida de los nuevos compuestos también debe estar relacionada con el tamaño, la forma, la estabilidad, los valores de pKa, etc.

4.6.3 Ensayo de inhibición in vitro de la enzima acetilcolinesterasa

La acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima del grupo de las hidrolasas que está presente en la mayoría de los seres vivos, especialmente en los vertebrados incluyendo a los seres humanos, pero también en invertebrados como los insectos. Por eso, esta enzima es una diana común de gran

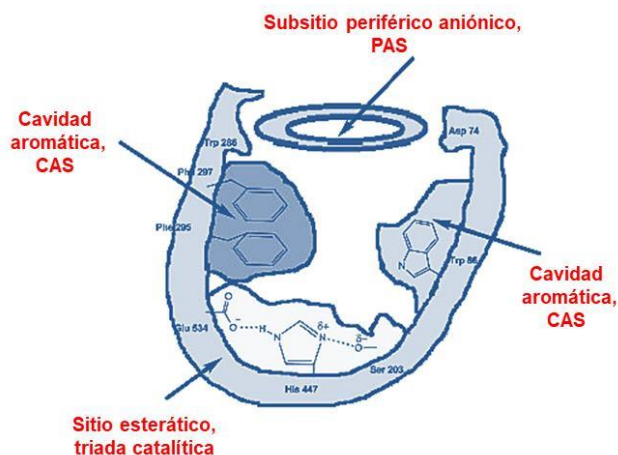
parte de los insecticidas usados actualmente, al inhibirla se puede sobre-estimular el sistema colinérgico del insecto y producirle la muerte.

La estructura de la AChE de la anguila eléctrica (*Electrophorus electricus*) ha sido estudiada desde la década de 1990 (Sussman *et al.*, 1991): el monómero enzimático de *eeAChE* es una proteína alfa/beta que contiene 537 aminoácidos. Su sitio activo conocido como sitio esterático, en donde ocurre la hidrólisis del neurotransmisor, está constituido por tres residuos: Ser 200, His 440 y Glu 327 (Dvir *et al.*, 2010; Harel *et al.*, 1993).

Además, esta enzima posee otros subsitios que son importantes en la interacción del neurotransmisor con el sitio activo de la enzima. Estos son la cavidad aromática (CAS, *catalytic aromatic site*) y el subsitio periférico aniónico (PAS) La cavidad aromática (garganta hidrofóbica) abarca una gran cantidad de residuos aromáticos encargados de las interacciones π -catión de la parte del amonio cuaternario de la acetilcolina y estos residuos aromáticos del sitio activo. El PAS aísla la cavidad aromática de la superficie externa de la enzima, además participa en funciones no catalíticas de la misma, como la adhesión a membranas, la diferenciación de células, etc.

Figura 84.

Representación de la estructura general de la eeAChE.



No obstante, cabe notar que la estructura de la AChE de la gran mayoría de los insectos incluyendo a la de *S. frugiperda* no está todavía resuelta; se conoce solamente la estructura de mosca de fruta *Drosophila melanogaster* (Harel *et al.*, 2000). De este estudio, se suponen la cierta similitud estructural entre eeAChE y AChE de los insectos.

Por esta razón, la investigación sobre los insecticidas se ha centrado en la capacidad de familias químicas de compuestos capaces de inhibir la enzima. Los inhibidores de AChE (AChEI) envuelven a un gran número de compuestos con estructuras muy variadas, y que en presencia de la AChE dan lugar a la inhibición de la enzima, por lo que alteran la sinapsis colinérgica (Khan, 2009). Estos compuestos pueden interactuar de maneras diferentes con la cavidad del sitio activo de la enzima, y en función de ellos se clasifican en tres grupos (Colović *et al.*, 2013; McHardy *et*

al., 2017): 1. Compuestos que interactúan con el sitio activo; 2. Compuestos que interactúan con la cavidad aromática y 3. Compuestos que interactúan con el subsitio periférico aniónico.

Los compuestos empleados como insecticidas incluyen algunos organofosforados y carbamatos, que alcanzan interactuar con el sitio activo de la enzima tanto de forma irreversible como reversible, causando así la muerte del organismo que se une en contacto con el inhibidor, idealmente la plaga (Houghton *et al.*, 2006). Se sabe que los carbamatos (compuestos derivados del ácido carbámico) son menos lesivos que los organofosforados, debido a que la interacción con el sitio activo se da de forma reversible, permitiendo que la enzima pueda restablecer su actividad. Uno de estos carbamatos que se usa para control de los gusanos, el metomilo (S-metil-N-tioacetimidato) fue introducido por Dupont en 1966. El metomomilo inhibe irreversiblemente acetilcolinesterasa y es eficaz contra muchas especies, incluyendo áfidos, lepidópteros, homópteros y ácaros que atacan una variedad de vegetales, cultivos y ciertos árboles frutales (Baron, 1991).

Un insecticida sistémico y de contacto, el metomilo posee una alta toxicidad aguda para ratas con un LD₅₀ de 30–34 mg/kg y está clasificado como un compuesto altamente peligroso por la Organización Mundial de la Salud (Clasificación de peligros de plaguicidas por peligro de la OMS, http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/index.html). Adicionalmente, el metomilo mostró una considerable genotoxicidad para los linfocitos humanos, causando aberraciones cromosómicas dependientes de la dosis y micronúcleos. Con estas características muy peligrosas, es claro que la búsqueda de los nuevos AChEI menos tóxicos y más efectivos es una de las tareas más importantes en la agroquímica. Esta búsqueda inicia con los ensayos de la inhibición

de la AChE preliminares usando la *ee*AChE usando el metomil como insecticida de referencia lo que realizó también en esta investigación

A nivel experimental la inhibición de la acetilcolinesterasa se midió por el incremento del color amarillo producido por la tiocolina procedente de la hidrólisis de la acetilcolina cuando ésta reacciona con el ion ditiobisnitrobenzoato para formar el anión del ácido tiobisnitrobenzoico, siendo este de color amarillo (Figura 85).

Figura 85.

Secuencia de reacciones para determinar la actividad inhibitoria de la AChE (Ellman et al., 1961)

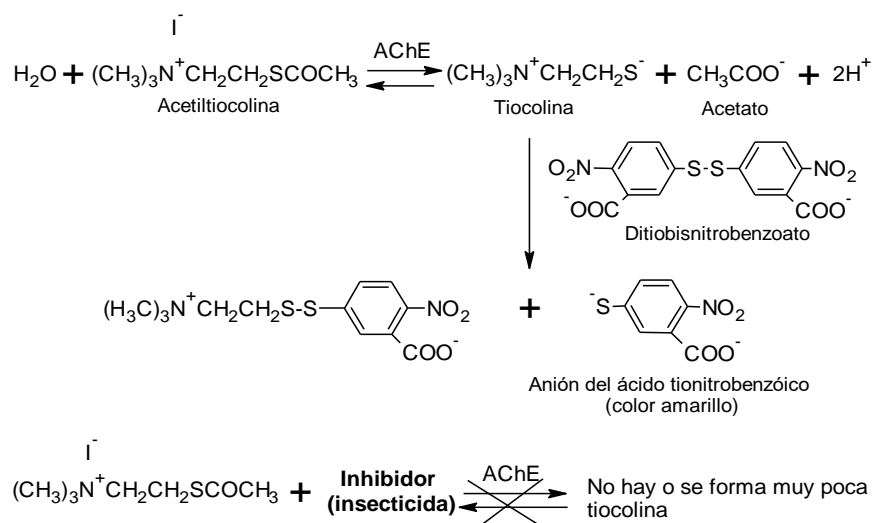


Figura 86.

Diseño experimental de una microplaca para la determinación de la inhibición enzimática.

	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂
Muestra 1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Muestra 1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Blanco	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Muestra 2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Muestra 2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Blanco	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Control	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Control	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

* C₁-C₁₂: concentraciones en diluciones seriadas 4.88×10^{-7} hasta 1×10^{-3} M;

Control: necesario para determinar la actividad de la enzima sin ningún tipo de inhibidor; los pocillos contienen: enzima (50 μ L), PBS (50 μ L) y solución sustrato (100 μ L).

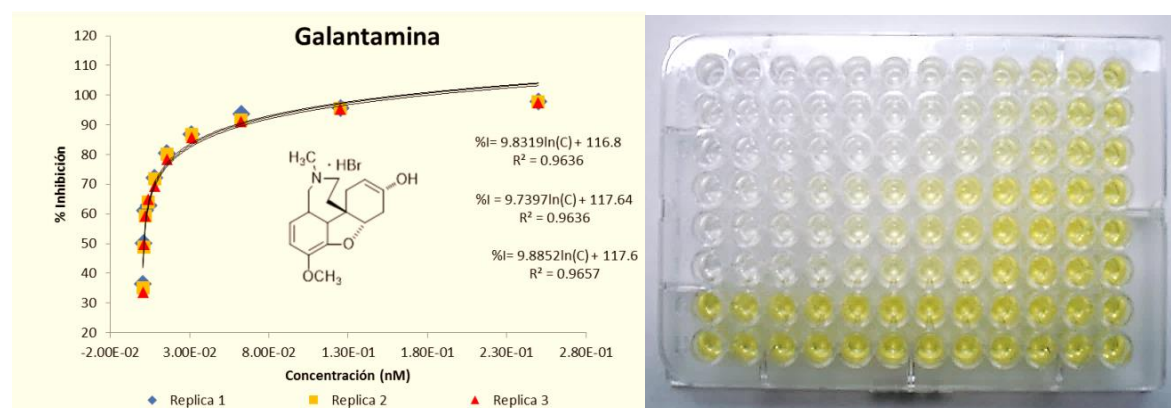
Blanco: necesario para restar cualquier absorción causada por los reactivos, los pocillos contienen: solución sustrato (100 μ L) y PBS (100 μ L)

El esquema experimental del ensayo en microplacas de 96 pocillos se presenta en la figura 86. El diseño incluyó un blanco para cada muestra y concentración, y dos filas de control, para la determinación del 100% de actividad enzimática sin ningún tipo de inhibidor. La CI₅₀ se definió como la concentración requerida para conseguir el 50% del efecto inhibitorio.

De otro lado, la figura 87 muestra una de las placas experimentales realizadas para determinar la inhibición de la enzima causada por la galantamina, un potente inhibidor utilizado frecuentemente para para el montaje de los métodos de análisis de inhibición de colinesterasas.

Figura 87.

Gráficas de las curvas % de mortalidad vs concentración del compuesto de referencia galantamina, y experimento real en microplaca de 96 pocillos.



A partir de la figura 88 se obtuvo el % de inhibición que fue graficado vs la concentración; con la ecuación de la curva obtenida se calculó la concentración inhibitoria media:

La galantamina presentó actividad inhibitoria media de la enzima de 0,30 $\mu\text{g/mL}$ (0,28 – 0,33 $\mu\text{g/mL}$), siendo un valor similar al reportado en la literatura que es de $0,27 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$. Después de implementar el método en el laboratorio comprobado con la galantiamina, se procedió

a probar los derivados quinolin-triazólicos en el protocolo desarrollado obteniéndose las curvas de inhibición de la AChE (figura 89).

Figura 88.

Ecuación del % inhibición producido para cada compuesto.

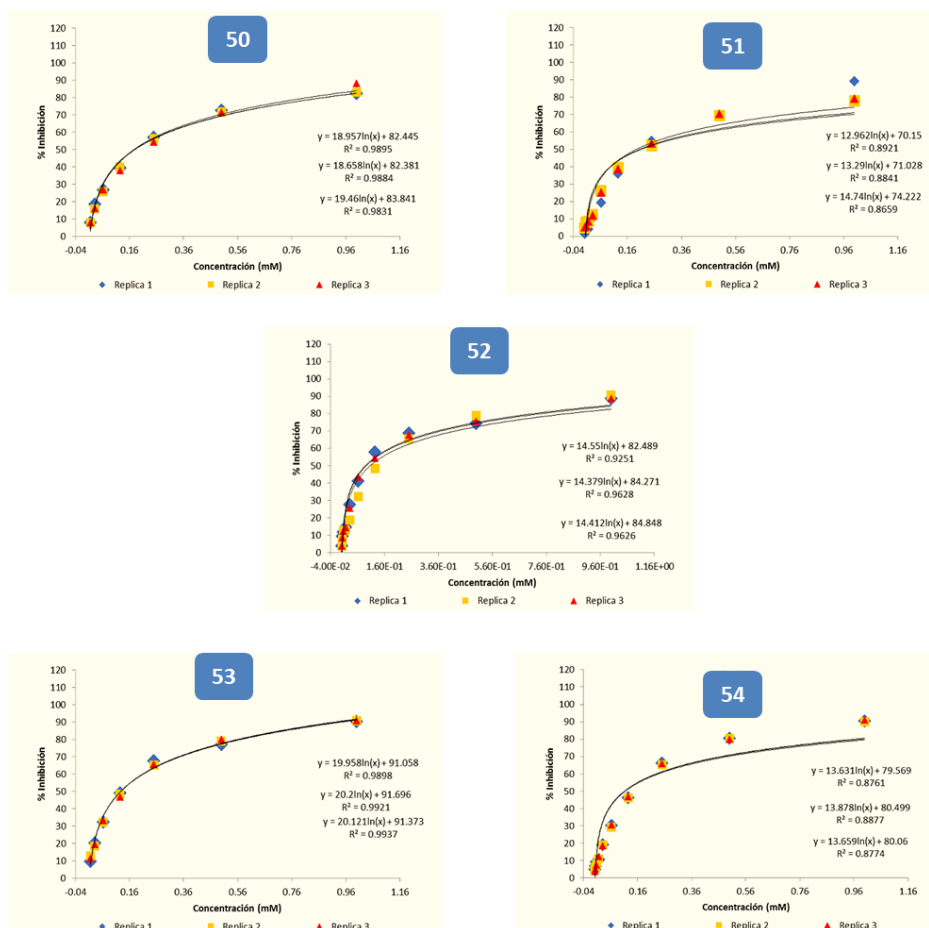
$$\% \text{ Inhibición} = \left(100 - \frac{(E - B)}{(C - B)} \times 100 \right)$$

E: Absorbancia muestra; **C:** Absorbancia control; **B:** Absorbancia Blanco

Los datos de CI_{50} de las triazolilquinolinas **50-54** se han determinado mediante la construcción de curvas de dosis-respuesta. El análisis de los resultados obtenidos muestra que todos los compuestos probados lograron inhibir la acetilcolinesterasa en concentraciones menores a 68,4 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 19). Los dos compuestos más activos fueron los híbridos **52** y **53** exhibiendo las CI_{50} 27,7 y 29,5 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. A pesar de que los híbridos son distintos estructuralmente, el nivel de inhibición enzimática fue muy similar para ambos compuestos.

Figura 89.

Gráficas de las curvas % inhibición vs concentración para los compuestos objeto de estudio.



Teniendo en cuenta que el compuesto **52** posee una buena actividad insecticida *in vivo* ($LD_{50} = 327,1 \mu\text{g/mL}$) y en contraste, el compuesto **53** ha sido una molécula mucho menos activa ($LD_{50} = 843,5 \mu\text{g/mL}$) (Tabla 17), los efectos observados parecen ser interesantes y tal vez, característico. Sumando los resultados de la Tabla 18, se puede hacer la siguiente suposición: diversas características lipofílicas ($c\text{LogP}$) de los híbridos **52** y **53** influyen más sobre la

penetración y transporte en tegumento de las larvas que su interacción con el sitio activo de la *eeAChE*.

Tabla 19.

Valores de CI_{50} para las triazolilquinolinas 50-54.

Actividad Inhibitoria *in vitro* de la AChE de los compuestos objeto de estudio

Comp.	CI_{50} (LI-LS)* ($\mu\text{g/mL}$)	CI_{50} (LI-LS)* (mM)	X^2	p
50	52.1 (51.3 - 52.9)	169.9 (167.2 - 172.60)	0.81	0.91
51	68.4 (65.3 - 71.4)	203.4 (194.2 - 212.5)	0.81	0.91
52	29.5 (28.5 - 30.5)	92.3 (89.1 - 95.4)	0.71	0.84
53	27.7 (27.5 - 27.9)	106.4 (105.5 - 107.3)	0.78	0.88
54	32.3 (31.8 - 32.9)	112.02 (110.1 - 113.9)	0.77	0.88
Gal. ^a	0.30 (0.28-0.33)	1.05 (0.97 - 1.13)	0.40	0.69
Met. ^b	0.31 (0.29-0.34)	1.05 (0.98 - 1.14)	0.40	0.69

*LI: límite inferior; LS: límite superior; ^aGal. – Galantamine; ^bMet. – Metomilo.

La confirmación de esta suposición no era objetivo de nuestra investigación y requiere más trabajo experimental, especialmente, los estudios de docking. Después de haber realizado los

bioensayos insecticidas *in vivo* y, los bioensayos enzimáticos frente *eeAChE in vitro*, se procedió a la siguiente etapa, - evaluación de la actividad antialimentaria de los mismos compuestos.

4.6.4 *Ensayo de actividad antialimentaria*

Para poder entender el efecto antialimentario de las molécula orgánicas, es necesario hacer un pequeño recuento de las relaciones entre las plantas y las demás especies del planeta (Harbone, 2002; Opitz & Müller, 2009; Piasecka *et al.*, 2015; Wittstock *et al.*, 2004).

Las plantas han estado interactuando con los animales (sobre todo, insectos) por varios cientos de millones de años, lo que ha conducido a mecanismos complejos de defensa química, contra las diversas estrategias de los insectos que buscan su alimentación. Estas defensas químicas contra los herbívoros son de suma importancia para las plantas. Algunas defensas son constitutivas mientras que otras son inducidas.

Los insectos herbívoros tradicionalmente se han dividido en los generalistas (polífagos), que se alimentan de varias especies de diferentes familias de plantas, y en los especialistas (monófagos y oligófagos), que se alimentan de una o unos pocos tipos de plantas de la misma familia. Los generalistas toleran una amplia gama de defensas presentes en la mayoría de las plantas, mientras que ellos no pueden alimentarse de ciertas plantas que han evolucionado a mecanismos de defensas más singulares. Los especialistas, por otra parte, utilizan un rango específico de plantas con compuestos tóxicos (defensivos), que al mismo tiempo pueden funcionar como estimulantes de la alimentación.

El efecto antialimentario de los productos naturales extraídos de las plantas aromáticas y medicinales ha sido ampliamente estudiado por muchos autores en los últimos años, sin embargo, estos efectos son considerados principalmente un aporte al estudio de la toxicidad aguda y crónica de los elementos de origen vegetal.

Las moléculas con propiedades antialimentarias pueden ser descritas como alomonas que inhiben la alimentación y afectan considerablemente el potencial de desarrollo del insecto, los cuales a su vez no tienen efectos directamente letales. El uso de estos compuestos ha sido particularmente eficaz en las larvas de los insectos fitófagos, que causan importantes daños y pérdidas en los cultivos debido a su alimentación destructiva. Muchas de estas sustancias son amargas y de aceptación de las plantas hospederas por herbívoros requiere quimiorrecepción de niveles favorables de los fagoestimulantes en relación con las moléculas antialimentarias de las plantas.

¿Qué es exactamente un insecticida de actividad antialimentaria? Existen varias definiciones para el término "antialimentaria" en la literatura. Según algunos científicos, cualquier sustancia que reduzca el consumo (alimentación) por un insecto puede ser considerado como un agente disuasorio de alimentación. Esta definición, sin embargo, excluye los productos químicos que suprimen alimentación actuando sobre el sistema nervioso central (siguiendo ingestión o absorción), o una sustancia que tiene una toxicidad subletal para el insecto (Hummelbrunner & Isman, 2001). La definición más aceptada es la de disuasión alimentaria de las moléculas, que

disuaden a los insectos de alimentarse después de haber mordido el material vegetal, es decir, la inhibición por las respuestas gustativas (Koul, 2008).

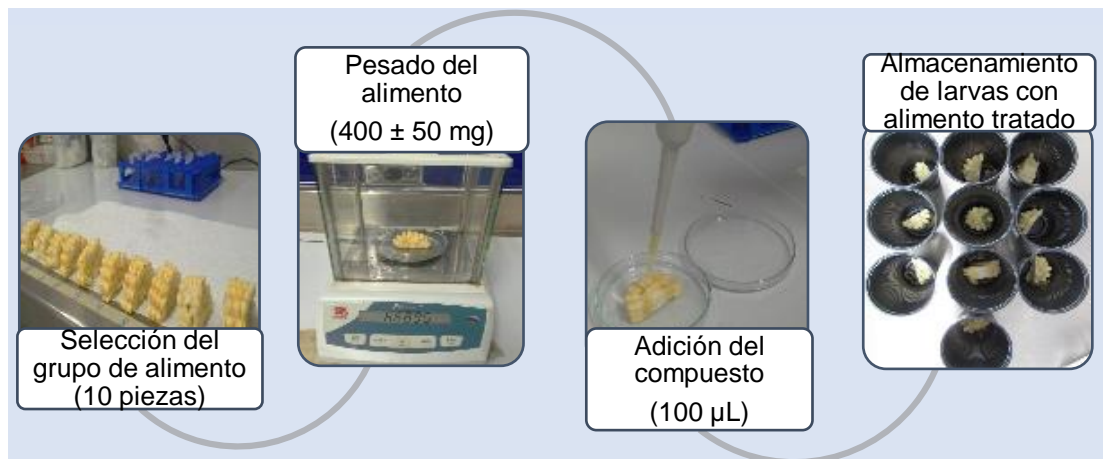
Recordemos que el gusano cogollero, *S. frugiperda* prefiere el maíz, pero puede alimentarse de más de 80 especies de plantas, incluyendo el arroz, el sorgo, el mijo, la caña de azúcar, algunos cultivos de vegetales y algodón. Por eso, en esta investigación se analizó el potencial antialimentario de los derivados TA-Qus **50-54**, empleando el método de disco de maíz (*Kiran et al.*, 2006).

Para evaluar la actividad se usaron larvas *S. frugiperda* peso promedio de 500 ± 50 mg, y los compuestos se disolvieron en acetona a concentraciones seriadas de 4500 a 50 $\mu\text{g/mL}$, como compuesto de referencia se utilizó cipermetrina (cuadro 1) y acetona como control. La cipermetrina es un insecticida de la familia de los piretroides sintéticos. Fue el primero comercializado en 1977. Es estructuralmente similar a las piretrinas que se encuentran en el extracto de la planta de crisantemo (piretro, *Crysanthemum cinerariaefolium* Trev.) y se usa mucho para controlar plagas de insectos como *S. frugiperda* (Ascher *et al.*, 1986; Keum, McQuate, & Li, 2007).

En un disco de maíz de peso promedio 400 ± 50 mg se adicionó 100 μL del compuesto disuelto en acetona y se dejó evaporar durante cinco minutos (figura 90). Al control se le adicionó 100 μL de acetona en el disco de maíz.

Figura 90.

Ensayo de actividad antialimentaria en larvas de S. frugiperda.



Las larvas seleccionadas para el ensayo se almacenaron en recipientes individuales sin alimento durante seis horas previas al bioensayo; transcurrido el tiempo se les proporcionó el disco de maíz con el compuesto a evaluar. Se utilizaron diez larvas para cada concentración. El alimento se pesó a intervalos de 24 horas durante 72 horas y se calculó el porcentaje de índice antialimentario (%IA) (Hummelbrunner & Isman, 2001). Con los datos de mortalidad se calculó el %IA para cada concentración evaluada usando la figura 91. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Figura 91.

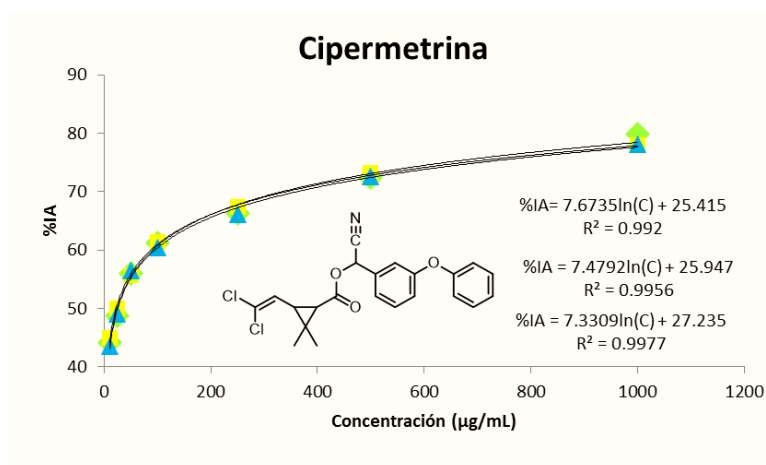
Ecuación de porcentaje de Índice Antialimentario (%IA): C : es el peso de la dieta consumido en el experimento control; T : es el peso de la dieta consumido en el experimento

$$\%IA = [(C-T) / (C+T)] \times 100$$

A partir de la ecuación 3 se obtuvo el %IA que fue graficado vs la concentración; con la ecuación de la curva obtenida se calculó la concentración inhibitoria media. Los resultados de los bioensayos con la cipermetrina (figura 92) se revalidaron el correcto protocolo desarrollado.

Figura 92.

Curvas de % Índice Antialimentario vs Concentración para el agente de referencia cipermetrina (Cip).



En la Tabla 20 se observan los porcentajes de índice antialimentario para los derivados quinolin-triazólicos el compuesto de referencia, la cipermetrina. Los resultados de este experimento confirmaron un gran poder de disuasión alimentaria de la cipermetrina cuya %IA era 56% a concentración de 50 µg/mL. Adicionalmente, se observó que casi todos los híbridos una excelente actividad antialimentaria de los híbridos casi preparados (comp. **50-53** y **54**) (IA = 71-79%) a una concentración de 1000 µg/mL en comparación con el índice antialimentario de cipermetrina (IA = 78%). Entre todos los derivados, la triazolilquinolina **50** fue el mejor compuesto disuasorio con un índice de 79%, mientras que el híbrido **53** fue la molécula disuasoria menos

activa (IA = 61%). Cabe destacar que la triazolilquinolina **50** fue suficientemente activa a una concentración de 250 µg/mL (IA = 56%). Los efectos disuasorios de este compuesto se pueden observar en la Figura 9358, donde la diferencia en el consumo de los discos de maíz con y sin esta molécula fue muy marcada.

Figura 9358.

*Imágenes del consumo de alimentos en la prueba de actividad antialimentaria; A) Disco de maíz sano, B) Disco de maíz de control (disolvente, acetona) consumido por el tratamiento de 72 h de larvas *S. frugiperda*; C) Disco de maíz tratado con solución de acetona de triazolilquinolina 4 en presencia de larvas *S. frugiperda* (72 h).*

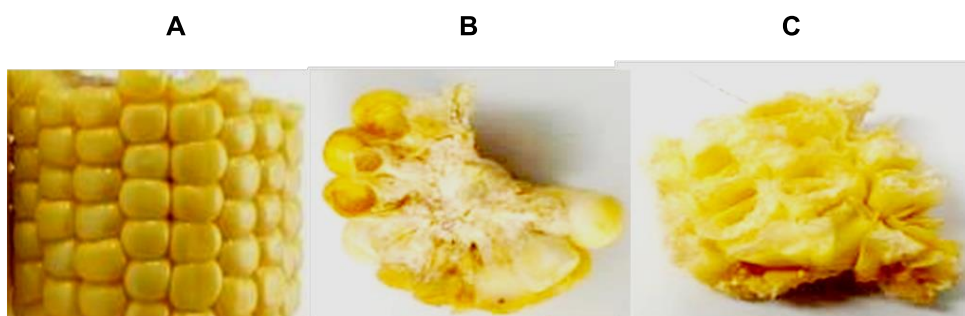


Tabla 20.

Valores de porcentaje de índice antialimentario (%IA) de los híbridos 50-54 en cada una de las concentraciones probadas.

Concentración	1000	500	250	100	50
(µg/mL)					
Comp.					

50	79	70	56	44	33
51	75	58	44	32	15
52	71	53	41	31	15
53	61	49	33	20	13
54	73	63	49	30	12
Cipermetrina	78	72	66	61	56

*LI: límite inferior; LS: límite superior

Con el índice %IA vs concentraciones se realizaron curvas y con las ecuaciones de ellas se calcularon la concentración efectiva media o CE_{50} , que es la concentración efectiva que da como resultado un índice disuasivo en el 50% de la población objeto de estudio. En la figura 94 se observan las gráficas obtenidas para esta serie de híbridos con las cuales fue posible de organizar la información final sobre la actividad antialimentaria de los compuestos sintetizados en esta etapa (tabla 6).

Al analizar los resultados de este experimento, se pudo comprobar que la cipermetrina tiene un gran poder de disuasión alimentaria con una $CE_{50} = 23,9$ (22,5-25,4) $\mu\text{g/mL}$ para el cogollero en cuarto instar. En la literatura se reportó una CE_{50} de 18,41 $\mu\text{g/mL}$ para el *S. litura* en quinto instar (Abbassy et al., 2009; Hummelbrunner & Isman, 2001). Se encontró que tres híbridos (comp. **50**, **51** y **54**) tenían un efecto disuasorio notable sobre las larvas *S. frugiperda* ($CE_{50} < 300 \mu\text{g/mL}$), evidenciándose la disminución en el consumo del alimento con tratamiento de cada uno de los compuestos en comparación con el consumo del alimento control. El compuesto menos activo en esta prueba fue el híbrido **53** ($CE_{50} = 557,4 \mu\text{g/mL}$).

Figura 94.

Gráficas de las curvas % de índice antialimentario vs concentración para los compuestos objeto de estudio.

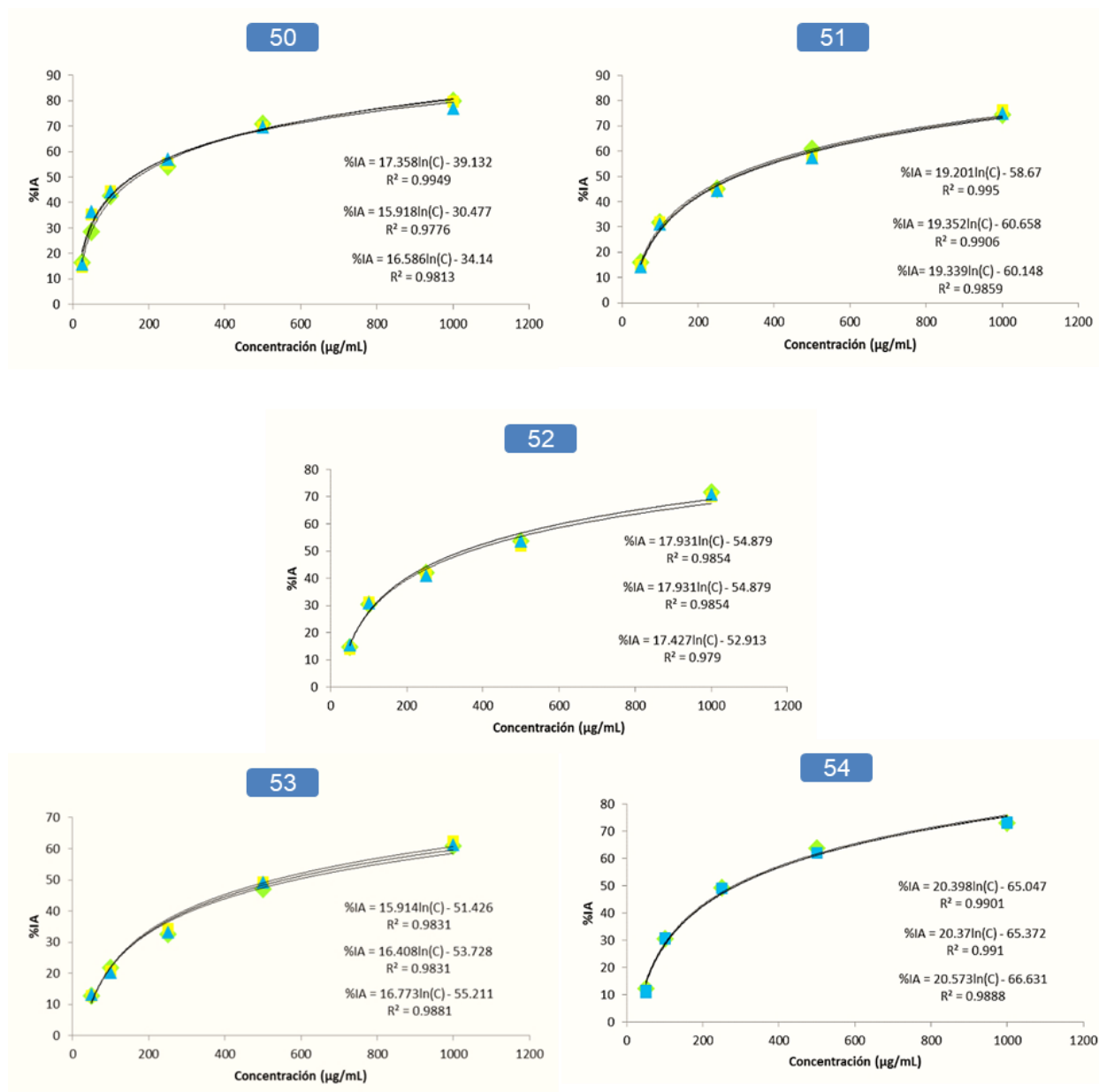
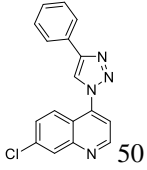
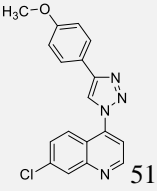
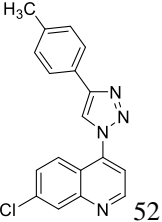
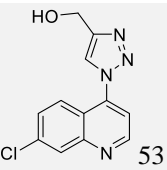
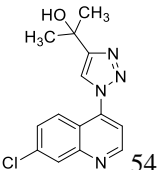


Tabla 21.

Actividad antialimentaria de los híbridos TA-Qus 50-54.

Actividad antialimentaria de los compuestos objeto de estudio

Comp.	CE ₅₀ (LI-LS)* (µg/mL)	CE ₉₅ (LI-LS)* (M)	X ²	p
 50	162.1 (155.3 - 168.9)	5.29x10 ⁻⁴ (5.06x10 ⁻⁴ - 5.51x10 ⁻⁴)	0.77	0.88
 51	296.3 (287.6 - 305.0)	2.14x10 ⁻³ (2.03x10 ⁻³ - 2.25x10 ⁻³)	0.89	0.94
 52	356.0 (345.9 - 366.2)	1.11x10 ⁻³ (1.08x10 ⁻³ - 1.14x10 ⁻³)	0.90	0.95
 53	557.4 (529.4 - 585.4)	5.97x10 ⁻³ (5.54x10 ⁻³ - 6.40x10 ⁻³)	0.92	0.96
 54	286.5 (282.1 - 290.9)	9.92x10 ⁻⁴ (9.77x10 ⁻⁴ - 1.01x10 ⁻³)	0.79	0.89
Cipermetrina	23.9 (22.5 - 25.4)	5.76x10⁻⁵ (5.41x10 ⁻⁵ - 6.10x10 ⁻⁵)	0.77	0.88

*LI: límite inferior; LS: límite superior.

De acuerdo con los resultados, el compuesto **50** presentó el mejor efecto antialimentario con una concentración efectiva (CE_{50}) de 162.1 $\mu\text{g/mL}$ y un %IA = 79% (a concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$), cabe destacar que la concentración que se usó para el bioensayo de actividad antialimentaria fue inferior a la concentración de mortalidad, por lo que la dosis que se utilizó fue una dosis eficaz sin causar muerte en el matar insecto. El híbrido **54** mostró también una buena actividad antialimentaria (CE_{50} = 286.5 $\mu\text{g/mL}$, %IA = 73% a concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$). Sin embargo, ambos compuestos resultaron insecticidas débiles (LD_{50} = 996.9 y 903.5 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente). Tampoco fueron muy activas en la inhibición de la *eeAChE* (Tabla 21).

Hay que destacar que entre todos los compuestos evaluados coherentemente en los tres tipos de bioensayos discutidos en esta investigación, la 7-cloro-4-(4-metilfenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)quinolina **52** que fue la mejor actividad insecticida 327,1 $\mu\text{g/mL}$, con un destacado efecto disuasivo de la alimentación con CE_{50} de 356,0 $\mu\text{g/mL}$ sobre larvas de *S. frugiperda*, además de la sobresaliente actividad inhibitoria de la *eeAChE* de 29,5 $\mu\text{g/mL}$. Estas características lo hacen una molécula promisoría en el desarrollo de nuevos agentes agroquímicos que combaten plagas causadas por larvas de *S. frugiperda*. Por eso, en la última etapa de la investigación de este capítulo se decidió analizarlo en las pruebas de toxicidad *in vivo* utilizando modelo de embriones de pez cebra.

4.6.5 Ensayo de toxicidad en embriones de pez cebra (*Danio rerio*)

El pez cebra (*Danio rerio*, Hamilton-Buchanan 1822), es un organismo vertebrado ideal para el estudio toxicológico de nuevas moléculas. La habilidad de usar todo el organismo completo permite ver los cambios fenotípicos que se producen durante el ensayo *in vivo* (Ali *et al.*, 2011). El pez cebra se ha convertido en un modelo importante en neurobiología, toxicología, así como en general la biología molecular debido a que: presenta 70 % de homología con el genoma humano, proporciona más información que los modelos de celulares, los embriones de pez cebra al ser transparentes permite que se realicen observaciones microscópicas en tiempo real y los embriones son lo suficientemente pequeños para ser manipulados en placas de 96 pocillos.

Para el ensayo se tomaron embriones de 24 hpf (horas post fertilización), se ubicaron individualmente en una microclapaca de 96 pocillos, se probaron concentraciones seriadas desde 1000 -15 μM . Las placas se incubaron por 72 horas a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, una vez transcurrido este tiempo, con la ayuda del esteromicroscopio se contaron el número de embriones muertos, y se calculó el porcentaje de mortalidad para cada concentración.

Usando la ecuación de la curva dosis-respuesta entre el porcentaje de mortalidad (%M) y las concentraciones evaluadas se logró demostrar que la concentración letal media (CL_{50}) del híbrido **52** era 104,3 (89,1 – 119,6) $\mu\text{g/mL}$ [325,3 (275,6 – 374,9) μM]. Según la clasificación adaptada en pez cebra (toxicidad: muy alta < 0.1 , alta 0.1-1, moderada $> 1-10$, ligera $> 10-100$ y prácticamente no tóxica > 100), se puede considerar que este compuesto es prácticamente no tóxico en los embriones de pez cebra.

4.7 Conclusiones del capítulo 4

Los estudios de la actividad insecticida mostraron que los derivados de triazolquinolinas tienen valores de CL_{50} desde 363,7 $\mu\text{g/mL}$ hasta 1415,4 $\mu\text{g/mL}$ sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*, destacándose la 7-cloro-4-(4-metilfenil-*1H*-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (Ta-Qu **52**) como mejor insecticida con buena actividad inhibitoria de la AChE.

Los estudios de los efectos antialimentarios sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* revelaron que los derivados de triazolquinolinas ejercen una buena actividad disuasiva de la alimentación con %IA superiores al 61,5% a concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ y CE_{50} entre 161,1 $\mu\text{g/mL}$ y 557,4 $\mu\text{g/mL}$, sobresaliéndose la 7-cloro-4-(4-fenil-*1H*-1,2,3-triazol-1-il)quinolina (TA-Qu **50**) como mejor molécula con efectos disuasivos.

El análisis de la actividad inhibitoria enzimática demostró por primera vez que los híbridos fusionados TA-Qus **50-54** son en general buenos modelos en la búsqueda de nuevos inhibidores de la enzima AChE.

La evaluación y análisis coherente de los resultados de estos tipos de bioensayos permitió identificar una molécula promisorio (TA-Qu **52**) en el desarrollo de nuevos agentes agroquímicos que combaten plagas causadas por larvas de *S. frugiperda*.

5. CONCLUSIONES GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN

Usando los métodos sintéticos basados en los conceptos de la química clic para la obtención de nuevos y diversos híbridos hidroxiquinolin-azoles se pudo realizar exitosamente la diversificación del anillo 8-hidroxiquinolínico conjugado con el fragmento 1,2,3-triazolico (TA-HQus) y del anillo 7-cloroquinolínico funcionado con el mismo fragmento (TA-Qus). La síntesis ha sido posible gracias a la eficiencia de las reacciones de cicloadición-1,3 dipolar regioselectivas entre alquinos y organoazidas en su versión moderna desarrollada por Sharpless-Fokin que involucra la catálisis del sulfato de cobre (II) pentahidrato y ácido ascórbico (ascorbato de sodio). La sencillez y robustez del método permiten obtener diversos productos agroquímicos en gran escala.

El diseño racional, basado en la táctica de hibridación molecular que se desarrolló y se aplicó en esta investigación, ofreció un acceso fácil y eficiente para nuevas moléculas triazol-quinolinicas. Combinando la naturaleza del esqueleto quinolínico, de los fragmentos alquinos y organoazidas, fue posible generar tres originales colecciones de moléculas híbridas heterocíclicas, estructuralmente diversas, efectivas como posibles agentes antifúngicos e insecticidas.

La realización de la prospección biológica (actividad antifúngica e insecticida) de nuevos híbridos obtenidos arrojó los nuevos resultados interesantes sobre las propiedades inhibitorias del crecimiento de los hongos de los géneros *Candida* y *Fusarium* y de las larvas del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).

Los resultados de la actividad antifúngica *in vitro* de los híbridos conjugados indicaron que algunas moléculas muestran fuerte actividad fungicida con CIM entre 7,8 y 62,5 $\mu\text{g/mL}$ y CFM entre 15,6 y 125 $\mu\text{g/mL}$. Las propiedades insecticidas (LD_{50} 327,1-996,9 $\mu\text{g/larva}$) de los híbridos fusionados se examinaron realizando bioensayos por aplicación tópica de los compuestos sobre larvas de peso promedio 500 ± 50 mg. El análisis de la actividad antialimentaria de los derivados reveló que las CE_{50} estuvieron en el rango de 316,0 hasta 630,1 $\mu\text{g/mL}$.

En conclusión, esta investigación abre un camino para el desarrollo de nuevos modelos de moléculas con actividad antifúngica y/o insecticida que puedan ser útiles para combatir los hongos y/o insectos que atacan a la palma aceite y al cultivo de maíz

Referencias Bibliográficas

- Abbassy, M. A., Abdelgaleil, S. A. M., & Rabie, R. Y. A. (2009). Insecticidal and synergistic effects of Majorana hortensis essential oil and some of its major constituents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131(3), 225–232.
- Afzal, O., Kumar, S., Ali, R., Kumar, R., Jaggi, M., & Bawa, S. (2015). A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. *European Journal of Medicinal Chemistry Journal*, 97, 871–910.
- Agalave, S. G., Maujan, S. R., & Pore, V. S. (2011a). Click Chemistry: 1,2,3-triazole as pharmacophore. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 26, 1–24.
- Agalave, S. G., Maujan, S. R., & Pore, V. S. (2011b). Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores. *Chemistry - An Asian Journal*, 6(10), 2696–2718.
- Ahmad, M., Saleem, M. A., & Sayyed, A. H. (2009). Efficacy of insecticide mixtures against pyrethroid- and organophosphate-resistant populations of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 65(3), 266–274.
- Aiki, Y., Kozaki, T., Mizuno, H., & Kono, Y. (2005). Amino acid substitution in Ace paralogous acetylcholinesterase accompanied by organophosphate resistance in the spider mite *Tetranychus kanzawai*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82(2), 154–161.
- Alam, M. S., Kajiki, R., Hanatani, H., Kong, X., Ozoe, F., Matsui, Y., Ozoe, Y. (2006). Synthesis and structure-activity relationships of 1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazoles as selective insect GABA receptor antagonists. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1361–1372.

- Alegría, M., Vélez, D., Varón, F., Martínez, G., Torres, G., & Corredor, J. (2015). Comportamiento frente a la Pudrición del cogollo (PC) de palmas derivadas de cruzamientos entre palmas *Elaeis guineensis* sobrevivientes a la epidemia en Tumaco, Nariño. *Revista Palmas*, 36(2), 69–77.
- Ali, S., van Mil, H. G. J., & Richardson, M. K. (2011). Large-Scale assessment of the zebrafish embryo as a possible predictive model in toxicity testing. *PLoS ONE*, 6(6).
- Almario Chávez, M. (2016). 100 mil hectáreas de palma están amenazadas por la PC en la región. *Vanguardia Liberal*, pp. 1–3.
- Aly, M. R. E., Ibrahim, M. M., Okael, A. M., & Gherbawy, Y. A. M. H. (2014). Synthesis, insecticidal, and fungicidal screening of some new quinoline derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 40(2), 214–227.
- Arafa, R. K., Hegazy, G. H., Piazza, G. A., & Abadi, A. H. (2013). Synthesis and in vitro antiproliferative effect of novel quinoline-based potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 826–832.
- Ascher, K. R. S., Eliyahu, M., Ishaaya, I., Zur, M., & Ben-moshe, E. (1986). Synergism of pyrethroid - organophosphorus insecticide mixtures in insects and their toxicity against *spodoptera littoralis* larvae. *Phytoparasitica*, 14(2), 101–110.
- Ball, C., & Finkelstein, D. B. (1992). *Biotechnology of filamentous Fungi: technology and products*. Butterworth-Heinemann.

- Baron, R. (1991). Carbamate insecticides. In *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 37, 1125–1189.
- Barraja, P., Diana, P., Lauria, A., Passannanti, A., Almerico, A. M., Minnei, C., La Colla, P. (1999). Indolo[3,2-c]cinnolines with antiproliferative, antifungal, and antibacterial activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 7(8), 1591–1596.
- Barrera, G., Simón, O., Villamizar, L., Williams, T., & Caballero, P. (2011). *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide : Genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. *Biological Control*, 58(2), 113–120.
- Barrett-bee, K., & Ryder, N. (1992). Biochemical aspects of ergosterol biosynthesis inhibition. *Emerging Targets in Antibacterial and Antifungal Chemotherapy*, 410–436.
- Bérubé, G. (2016). An overview of molecular hybrids in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 11(3), 281–305.
- Bharate, J., Vishwakarma, R., & Bharate, S. (2015). Metal-free domino one-pot protocols for quinoline synthesis. *RSC Advances*, 15(52), 42020–42053.
- Boechat, N., Ferreira, M. D. L. G., Pinheiro, L. C. S., Jesus, A. M. L., Leite, M. M. M., Júnior, C. C. S., Krettli, A. U. (2014). New compounds hybrids 1*H*-1,2,3-triazole-quinoline against plasmodium falciparum. *Chemical Biology & Drug Design*, 84(3), 325–332.
- Bonandi, E., Christodoulou, M. S., Fumagalli, G., Perdicchia, D., Rastelli, G., & Passarella, D. (2017). The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry. *Drug Discovery Today*, 22(10), 1572–1581.

- Bräse, S., & Banert, K. (2010). *Organic Azides: Syntheses and Applications*. Great Britain: John Wiley & Sons.
- Bräse, S., Gil, C., Knepper, K., & Zimmermann, V. (2005). Organic Azides : An exploding diversity of a unique class of compounds. *Angewandte Chemie International Edition*, 44, 5188–5240.
- Butina, D., Segall, M., & Frankcombe, K. (2002). Predicting ADME properties in silico: Methods and models. *Drug Discovery Today*, 7, S83-8.
- Calderone, R. (2004). Antifungal drugs, targets and target discovery - Pathogenic fungi, host interaction and emerging strategies for control. In *Pathogenic Fungi : Host Interactions and Emerging Strategies for Control*. 335–355.
- Campanella, V., Ippolito, A., & Nigro, F. (2002). Activity of calcium salts in controlling Phytophthora root rot of citrus. *Crop Protection*, 21, 751–756.
- Capinera, J. L. (2008). Fall Armyworm , *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). *Institute of Food and Agricultural Sciences*, 1–6.
- Carey, F. A., & Sundberg, R. J. (2007). *Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms*. Springer Science & Business Media.
- Casida, J. E., & Durkin, K. A. (2013). Anticholinesterase insecticide retrospective. *Chemico-Biological Interactions*, 203(1), 221–225.
- Casmuz, A., Juárez, M. L., Socías, M. G., Murúa, M. G., Prieto, S., Medina, S., Gastaminza, G.

(2010). Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de La Sociedad Entomologica Argentina*, 69(3-4), 209-231.

Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton*.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2008a). Document M27-A3. In *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts* (1-25).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2008b). Document M38-A2. In *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi* (Vol. 28, 1-35). Wayne, PA 19087 USA.

Colombano, G., Travelli, C., Galli, U., Caldarelli, A., Chini, M. G., Canonico, P. L., Avogadro, O. A. (2010). A novel potent nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibitor synthesized via click chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(2), 616-623.

Colović, M., Krstić, D., Lazarević-Pašti, T., Bondžić, A., & Vasić, V. (2013). Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11, 315-335.

Cooman, A. P. (2017). *Perspectivas del sector palmicultor colombiano y retos en innovación*. 38(4), 20-24.

Cotelle, P. (2006). Patented HIV-1 Integrase Inhibitors (1998-2005). *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 1, 1-15.

- Cotten, T. K., & Munkvold, G. P. (1998). Survival of *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. subglutinans* in maize stalk residue. *Phytopathology*, 88(6), 550–555.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(6), 3670–3695.
- Cudworth, D. P., Hegde, V. B., Yap, M. C. H., Guentenspberger, K. A., Hamilton, C. T., Pechacek, J. T., Schoonover, J. R. (2007). Structure-activity relationship development of dihaloaryl triazole compounds as insecticides and acaricides. 1. Phenyl thiophen-2-yl triazoles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7517–7526.
- DANE. (2011). Resultados encuesta nacional agropecuaria ENA. Retrieved March 17, 2012, from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/doc_anexos_ena_2011.pdf
- DANE. (2016). *3er Censo nacional agropecuario*. Retrieved from <https://www.dane.gov.co>
- Dangond, L. F. (2015). Palma de aceite: motor de desarrollo rural. *Palmas*, 36(3), 102–108.
- Darby, C. M., & Nathan, C. F. (2010). Killing of non-replicating *Mycobacterium tuberculosis* by 8-hydroxyquinoline. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 65, 1424–1427.
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(12), 4022–4034.
- De la Torre-Hernández, M. E., Sánchez-Rangel, D., Galeana-Sánchez, E., & Plasencia-de la Parra, J. (2014). Fumonisin – síntesis y Función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz.

Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas, 17(1), 77–91.

- De O Freitas, L. B., Borgati, T. F., De Freitas, R. P., Ruiz, A. L. T. G., Marchetti, G. M., De Carvalho, J. E., Alves, R. B. (2014). Synthesis and antiproliferative activity of 8-hydroxyquinoline derivatives containing a 1,2,3-triazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 595–604.
- Drenth, A., Torres, G. A., & Martinez, G. (2013). Phytophthora palmivora, la causa de la pudrición del cogollo en la palma de aceite. *Palmas*, 34, 87–94.
- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., & Sussman, J. (2010). Acetylcholinesterase: From 3D Structure to Function. *Chemico-Biological Interactions*, 187, 10–22.
- El-Aswad, A. F., Abdelgaleil, S. A. M., & Nakatani, M. (2004). Feeding deterrent and growth inhibitory properties of limonoids from Khaya senegalensis against the cotton leafworm, Spodoptera littoralis. *Pest Management Science*, 60(2), 199–203.
- El-Guindy, M. A., Abdel-Sattar, M. M., & El-Refai, A. R. M. (1983). The joint action of mixtures of insecticides, or of insect growth regulators and insecticides, on susceptible and diflubenzuron-resistant strains of Spodoptera littoralis boisd. *Pesticide Science*, 14(3), 246–252.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95.
- Epstein, T., Samanta, U., Kirby, S. D., Srinivasan, P., Cerasoli, D. M., & Bahnson, B. J. (2009). Crystal structures of human group-VIIA phospholipase A2 inhibited by organophosphorus

nerve agents exhibit non-aged complexes. *Biochemical Pharmacology*, 78(4), 420–429.

Estevez, M. ., Lopez, E., Martinez, E., Simal, J., Mejuto, J. C., & Garcia, L. (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123, 247–260.

European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST). (2017). EUCAST Definitive Document E.DEF 7.3.1. In *Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts* 1–21.

Eweas, A. F., Allam, G., Abuelsaad, A. S. A., Hamid, A., & Maghrabi, I. A. (2013). Design , synthesis , anti-schistosomal activity and molecular docking of novel 8-hydroxyquinoline-5-sufonyl 1 , 4-diazepine derivatives. *Biorganic Chemistry*, 46, 17–25.

Fedepalma. (2015). Anuario Estadístico 2015 - La agroindustria de la palma de aceite en Colombia y en el mundo. In *Anuario Estadístico* (Vol. 0).

Fernández-Galleguillos, C., Saavedra, L. A., & Gutierrez, M. (2014). Synthesis of New 3-(2-Chloroquinolin-3-yl)-5-Phenylisoxazole Derivatives via Click-Chemistry Approach. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25(2), 365–371.

Figueira-Mansur, J., Ferreira-Pereira, A., Mansur, J. F., Franco, T. A., Alvarenga, E. S. L., Sorgine, M. H. F., Moreira, M. F. (2013). Silencing of *P*-glycoprotein increases mortality in temephos-treated *Aedes aegypti* larvae. *Insect Molecular Biology*, 22(6), 648–658.

Formento, Á., Carmona, M., Scandiani, M., & Luque, A. (2014). El síndrome de la muerte súbita y la roya asiática de la soja, dos enfermedades para no descuidar. *Revista Técnica Red de Innovadores. Soja Una Visión Global.*, 1–7.

- Fournet, A., Hocquemiller, R., Roblot, F., Cavé, A., Rochomme, P., & Bruneton, J. (1993). Les chimanines, nouvelles quinoléines substituées en 2, isolées d'une plante bolivienne antiparasitaire: Galipea Longiflora. *Journal of Natural Products*, 56(9), 1547–1552.
- Georgopapadakou, N. H., & Walsh, T. J. (1996). Antifungal agents : Chemotherapeutic targets and immunologic strategies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(2), 279–291.
- Gerwick, B. C., & Sparks, T. C. (2014). Natural products for pest control: An analysis of their role, value and future. *Pest Management Science*, 70(8), 1169–1185.
- Harbone, J. B. (2002). Introduction to Ecological Biochemistry. In *Academic Press, Amsterdam* (Vol. 30).
- Harel, M., Schalk, I., Ehret-Sabatier, L., Bouet, F., Goeldner, M., Hirth, C., Sussman, J. L. (1993). Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(19), 9031–9035.
- Harel, Michal, GITAY, K., WILLIAM, M., TERENCE, L., RODNEY, F., J., G., Sussman, J. (2000). Three-dimensional structures of *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase and its complexes with two potent inhibitors. *Protein Science*, 9, 1063–1072.
- Hassan, S., & Müller, T. J. J. (2015). Multicomponent syntheses based upon copper-catalyzed alkyne-azide cycloaddition. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 357(4), 617–666.
- Hassner, A. (2008). *Synthesis of Heterocycles via Cycloadditions*. Heidelberg: Springer-Verlag.

36-45.

Hector, R. F. (2005). An overview of antifungal drugs and their use for treatment of deep and superficial mycoses in animals. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20, 240–249.

Hein, J. E., & Fokin, V. V. (2011). Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition and beyond: new reactivity of copper acetylides. *Chemical Society Reviews*, 39(4), 1302–1315.

Hiersemann, M., & Nubbemeyer, U. (2007). *The Claisen Rearrangement, methods and applicatios*. Wiley-CH

Himo, F., Lovell, T., Hilgraf, R., Rostovtsev, V. V., Noodleman, L., Sharpless, K. B., & Fokin, V. V. (2005). Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *Journal of the American Chemical Society*, 127(1), 210–216.

Hirooka, T., & Ishii, H. (2013). Chemical control of plant diseases. *Journal of General Plant Pathology*, 79, 390–401.

Holla, B. S., Mahalinga, M., Karthikeyan, M. S., Poojary, B., Akberali, P. M., & Kumari, N. S. (2005). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some substituted 1,2,3-triazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40(11), 1173–1178.

Houghton, P. J., Ren, Y., & Howes, M. J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, 23(2), 181–199.

Huisgen, R. (1963). 1,3-Dipolar Cycloadditions Past and Future. *Angewandte Chemie - International Edition*, 2(10), 565–632.

- Hull, J. W., Romer, D. R., Adaway, T. J., & Podhorez, D. E. (2009). Development of manufacturing processes for a new family of 2,6-dihaloaryl 1,2,4-triazole insecticides. *Organic Process Research and Development*, 13(6), 1125–1129.
- Hummelbrunner, L. A., & Isman, M. B. (2001). Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 715–720.
- ICA - Instituto Colombiano de Agricultura. (2012). Resolución 000225 - 2 de Febrero.
- Irfan, M., Alam, S., Manzoor, N., & Abid, M. (2017). Effect of quinoline based 1,2,3-Triazole and its structural analogues on growth and virulence attributes of *Candida albicans*. *PLoS ONE*, 12(4), 1–23.
- Irfan, M., Aneja, B., Yadava, U., Khan, S. I., Manzoor, N., Daniliuc, C. G., & Abid, M. (2015). Synthesis, QSAR and anticandidal evaluation of 1,2,3-triazoles derived from naturally bioactive scaffolds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 93, 246–254.
- Jang, M. H., Ha, K., Joo, G. J., & Takamura, N. (2003). *Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton*. *Freshwater biology*, 48(9), 1540-1550.
- Jin, L., Tolentino, D. R., Melaimi, M., & Bertrand, G. (2015). Isolation of bis (copper) key intermediates in Cu-catalyzed azide-alkyne “click reaction”. *Science Advances*, 1(5), e1500304.
- Karthik Kumar, K., Prabu Seenivasan, S., Kumar, V., & Mohan Das, T. (2011). Synthesis of quinoline coupled [1,2,3]-triazoles as a promising class of anti-tuberculosis agents.

Carbohydrate Research, 346(14), 2084–2090.

Kategaonkar, A. H., Shinde, P. V., Kategaonkar, A. H., Pasale, S. K., Shingate, B. B., & Shingare, M. S. (2010). Synthesis and biological evaluation of new 2-chloro-3- derivatives via click chemistry approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(7), 3142–3146.

Keum, Y.-S., McQuate, G., & Li, Q. (2007). Synergists isolated from cade oil for the paraperomone α -ionol for male *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae). *Biochemical Systematics and Ecology - Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 188–195.

Khan, M. T. H. (2009). Molecular interactions of cholinesterases inhibitors using in silico methods: current status and future prospects. *New Biotechnology*, 25(5), 331–346.

Kim, Y. H., Choi, J. Y., Je, Y. H., Koh, Y. H., & Lee, S. H. (2010). Functional analysis and molecular characterization of two acetylcholinesterases from the German cockroach, *Blattella germanica*. *Insect Molecular Biology*, 19(6), 765–776.

Kiran, S. ravi, Reddy, A. S., Devi, P. sita, & Reddy, J. (2006). The efficacy of a petroleum spray oil against *Aphis gossypii* Glover on cotton. Part 1: Mortality rates and sources of variation. *Pest Management Science*, 63(June 2007), 586–595.

Kolb, H. C., Finn, M. G., & Sharpless, K. B. (2001). Click Chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie - International Edition*, 40, 2004–2021.

Kolb, H. C., & Sharpless, K. B. (2003). The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug Discovery Today*, 8(24), 1128–1137.

- Konrath, E. L., Passos, C. D. S., Klein-Júnior, L. C., & Henriques, A. T. (2013). Alkaloids as a source of potential anticholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65(12), 1701–1725.
- Koul, O. (2008). Phytochemicals and Insect Control: An Antifeedant Approach. *Critical Reviews in Plant Sciences -Critical Reviews in Plant Sciences*, 27, 1–24.
- Kouznetsov, V. V., Vargas-Méndez, L. Y., & Zubkov, F. i. (2016). Recent advances in the synthesis of bioactive quinoline-based 1,2,3-triazoles via cu-catalyzed huisgen 1,3-dipolar cycloaddition (“click reaction”). *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 13(6), 488–503.
- Kouznetsov, V. V., & Gómez-Barrio, A. (2009). Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 3091–3113.
- Krämer, W. (2012). Modern Crop Protection Compounds. In *Wiley-vch Verlag*.
- Kumar, A., Srivastava, K., Kumar, S. R., Puri, S. K., & Chauhan, P. M. S. (2010). Synthesis of new 4-aminoquinolines and quinoline – acridine hybrids as antimalarial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(23), 7059–7063.
- Leon, R., Garcia, A., & Marco-Contelles, J. (2013). Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for theTreatment of Alzheimer'sDisease. *Medicinal Research Reviews*, (4), 520–547.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual* (Blackwell).

- Liang, L., & Astruc, D. (2011). The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) “click” reaction and its applications. An overview. *Coordination Chemistry Reviews*, 255(23–24), 2933–2945.
- Lim, T. K. (2013). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Springer, Ed.). Estados Unidos.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(SUPPL.), 4–17.
- Lipshutz, B. H., & Taft, B. R. (2006). Heterogeneous copper-in-charcoal-catalyzed click chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 45(48), 8415–8418.
- Lopez-Meyer, M., Nessler, C. L., & McKnight, T. D. (1994). Sites of accumulation of the antitumor alkaloid camptothecin in *Camptotheca acuminata*. *Planta Medica*, 60(6), 558–560.
- Luna Parada, L. K., Vargas Mendez, L. Y., & Kouznetsov, V. V. (2018). Quinoline-Substituted 1,2,3-Triazole-Based Molecules, As Promising Conjugated Hybrids in Biomedical Research. *Organic and Medicinal Chemistry*, 7(2), 1–10.
- Manohar, S., Khan, S. I., & Rawat, D. S. (2011). Synthesis of 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole and 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole-1,3,5-triazine hybrids as potential antimalarial agents. *Chemical Biology and Drug Design*, 78(1), 124–136.
- Mantoani, S. P., Chierrito, T. P. C., Vilela, A. F. L., Cardoso, C. L., Martínez, A., & Carvalho, I. (2016). Novel triazole-quinoline derivatives as selective dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. *Molecules*, 21(2), 1–12.

- Marco, J. L., De Los Ríos, C., Carreiras, M. C., Baños, J. E., Badia, A., & Vivas, N. M. (2002). Synthesis and acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase inhibition activity of 4-amino-2,3-diaryl- 5,6,7,8-tetrahydrofuro(and thieno)[2,3-*b*]-quinolines, and 4-amino-5,6,7,8,9-pentahydro-2,3-diphenylcyclohepta[e]furo(and thieno)-[2,3-*b*]pyridines. *Archiv Der Pharmazie*, 335(7), 347–353.
- Marella, A., Tanwar, O. P., Saha, R., Ali, M. R., Srivastava, S., Akhter, M., & Shaquiquzzaman, M. (2013). Quinoline : A versatile heterocyclic. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(1), 1–12.
- Martínez, G., Arias, N. A., Sarria, G. A., Torres, G. A., Varón, F., Noreña, C., Burgos, C. (2009). *Manejo integrado de la Pudrición del cogollo (PC) de la Palma de aceite*.
- Martinez, G., Sarria, G. A., Torres, G. A., Aya, H. A., Ariza, J. G., Rodríguez, J., Varón, F. (2008). Microorganismos asociados a a la la Pudrición del cogollo de la Palma de aceite y su inoculación en palmas de vivero. *Palmas*, 29, 19–30.
- Martínez, G., Sarria, G. A., Torres, G. A., & Varón, F. (2010). Avances en la investigación de *Phytophthora palmivora*, el agente causal de la pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia. *Palmas*, 31(1), 55–63.
- Martinez, M., Castañares, E., Dinolfo, M. I., Pacheco, W. G., Moreno, M. V., & Stenglein, S. A. (2014). Presencia de *Fusarium graminearum* en muestras de trigo destinado al consumo humano. *Revista Argentina de Microbiologia*, 46(1), 41–44.
- Mathew, B. P., & Nath, M. (2009). Recent approaches to antifungal therapy for invasive mycoses. *ChemMedChem*, 4, 310–323.

- McHardy, S. F., Wang, H. Y. L., McCowen, S. V., & Valdez, M. C. (2017). Recent advances in acetylcholinesterase Inhibitors and Reactivators: an update on the patent literature (2012-2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 27(4), 455–476.
- Melendez-Gómez, C., & Kouznetsov, V. (2005). Alcaloides quinolínicos: importancia biológica y esfuerzos sintéticos. *Universitas Scientiarum*, 10(2), 5–18.
- Moret, V., Laras, Y., Cresteil, T., Aubert, G., Ping, D. Q., Di, C., Kraus, J. L. (2009). Discovery of a new family of bis-8-hydroxyquinoline substituted benzylamines with pro-apoptotic activity in cancer cells: Synthesis, structure-activity relationship, and action mechanism studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(2), 558–567.
- Mosquera, M., Valderrama Villabona, M., Fontanilla la Diaz, C., Ruiz Álvarez, E., Uñate, M., Rincón, F., & Arias, N. (2016). Costos de producción de la agroindustria de la palma de aceite en Colombia en 2014*. *Palmas*, 37(2), 37–53.
- Muñoz Acevedo, A. (2010). *Estudio de especies aromáticas con alto contenido de timol, Carvacrol, trans-anetol o estragol y empleo de fenoles y sus derivados en la síntesis de 2,5-dihidro-1-benzoxepinas y evaluación de sus actividades biológicas*. Tesis de Doctorado.
- Musiol, R., Jampilek, J., Buchta, V., Silva, L., Niedbala, H., Podeszwa, B., Majerz-maniecka, K. (2006). Antifungal properties of new series of quinoline derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 3592–3598.
- Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Tomita, T. (2004). An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313(3), 794–801.

- Nepali, K., Sharma, S., Sharma, M., Bedi, P. M. S., & Dhar, K. L. (2014). Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 77, 422–487.
- Nolte, C., Mayer, P., & Straub, B. F. (2007). Isolation of a copper(I) triazolide: a “click” intermediate. *Angewandte Chemie - International Edition*, 46, 2101–2103.
- Ngoro, X., Tobeka, N., & Aderibigbe, B. A. (2017). Quinoline-Based Hybrid Compounds with. *Molecules*, 22(12), 2268.
- OMS - Organización mundial de la salud. (1992). Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. In *Programa de la Naciones Unidas para el Medio Ambiente*.
- Opitz, S. E. W., & Müller, C. (2009). Plant chemistry and insect sequestration. *Chemoecology*, 19(3), 117–154.
- Padwa, A., & Pearson, W. H. (2002). *Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products*. Vol. 59. New York: John Wiley & Sons.
- Pang, Y.-P., Brimijoin, S., W. Ragsdale, D., Yan Zhu, K., & Suranyi, R. (2012). Novel and Viable Acetylcholinesterase Target Site for Developing Effective and Environmentally Safe Insecticides. *Current Drug Targets*, 13(4), 471–482.
- Pavela, R., & Vrchotová, N. (2013). Insecticidal effect of furanocoumarins from fruits of *Angelica archangelica* L. against larvae *Spodoptera littoralis* Boisid. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 33–39.

- Pereira, G. R., Brandão, G. C., Arantes, L. M., Júnior, H. A. de O., Paula, R. C. de, Nascimento, M. F. A. do, Oliveira, A. B. de. (2014). 7-Chloroquinolinotriazoles: synthesis by the azide-alkyne cycloaddition click chemistry, antimalarial activity, cytotoxicity and SAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 73, 295–309.
- Pereira, G. R., Célio, G., Arantes, L. M., Oliveira, H. A. De, Cristina, R., Paula, D., Oliveira, D. (2014). 7-Chloroquinolinotriazoles : Synthesis by the azide e alkyne cycloaddition click chemistry , antimalarial activity , cytotoxicity and SAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 73, 295–309.
- Piasecka, A., Jedrzejczak-Rey, N., & Bednarek, P. (2015). Secondary metabolites in plant innate immunity: Conserved function of divergent chemicals. *New Phytologist*, 206(3), 948–964.
- Pilla D’Incao, M., Gosmann, G., Machado, V., Mariana Fiuza, L., & R. P. Moreira, G. (2012). Effect of Saponin Extracted from *Passiflora alata* Dryander (Passifloraceae) on development of the *Spodopterafrugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *International Journal of Plant Research*, 2(5), 151–159.
- Pinaria, A., Liew, E., & Burgess, L. (2010). Fusarium species associated with vanilla stem rot in Indonesia. *Australasian Plant Pathology*, (Burgess 1981), 176–183.
- Pohanka, M. (2011). Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers*, 155(3), 219–230.
- Prachayasittikul, V., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., & Prachayasittikul, V. (2013). 8-Hydroxyquinolines : a review of their metal chelating properties and medicinal applications. *Drug Design, Development and Therapy*, 7, 1157–1178.

- Prajapati, S., Patel, K., Vekariya, R., Panchal, S., & Patel, H. (2014). Recent advances in the synthesis of quinolines: a review. *RSC Advances*, 4(47), 24463–24476.
- Ramann, G., & Cowen, B. (2016). Recent Advances in Metal-Free Quinoline Synthesis. *Molecules*, 21, 986.
- Ratheesh, M., Sindhu, G., & Helen, A. (2013). Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from *Ruta graveolens* L. *Inflammation Research*, 64(2), 367–376.
- Rattanapan, A., Visetson, S., Ngernsiri, L., & Milne, J. (2006). Efficiency of Thai derris extract and cypermethrin: toxicity and detoxification enzyme mechanism in the tropical armyworm, *Spodoptera litura* F. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71, 329–337.
- Redacción agropecuaria. (2016, June 2). La PC afecta el sustento de 16 mil familias palmeras en el país. *Vanguardia Liberal*.
- Redacción economía. (2017, June 24). Cenipalma alerta por PC en palma del Magdalena. *Vanguardia Liberal*.
- Rodionov, V. O., Presolski, S. I., Díaz, D. D., Fokin, V. V., & Finn, M. G. (2007). Ligand-accelerated Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition: A mechanistic report. *Journal of the American Chemical Society*, 129(42), 12705–12712.
- Rostovtsev, V. V, Green, L. G., Fokin, V. V, & Sharpless, K. B. (2002). A Stepwise Huisgen cycloaddition process : Copper (I) -catalyzed regioselective ligation of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie - International Edition*, 41(14), 2596–2599.

- Ruiz-Camps, I., & Cuenca-Estrella, M. (2009). Antifúngicos para uso sistémico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(6), 353–362.
- Sackett, T. E., Towers, G. H. N., & Isman, M. B. (2007). Effects of furoquinoline alkaloids on the growth and feeding of two polyphagous lepidopterans. *Chemoecology*, 17(2), 97–101.
- Sádaba, B., García-Quetglas, E., & Azanza, J. (2004). Relación entre estructura y función en los azoles. *Revista Española de Quimioterapia*, 17(1), 71–78.
- Sanz Scovino, J. I. (2016). Pudrición del cogollo: enfrentamiento integral contra un enemigo letal, *P. palmivora** Bud. *Palmas*, 37, 109–114.
- Scapinello, J., Oliveira, J. V., Lucas, M., Tomazelli, O., Antonio, L., & Dal, J. (2014). Effects of supercritical CO₂ extracts of *Melia azedarach* L. on the control of fall armyworm (Spodoptera frugiperda). *The Journal of Supercritical Fluids*.
- Scarpini, E., Scheltens, P., & Feldman, H. (2003). Treatment of Alzheimer's disease: Current status and new perspectives. *Lancet Neurology*, 2(9), 539–547.
- Scherkenbeck, J. (2009). Modern trends in agrochemistry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(12), 4019.
- Schmitz, P. M., & Kavallari, A. (2009). Crop plants versus energy plants-On the international food crisis. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(12), 4020–4021.

- Shirame, S. P., Jadhav, S. Y., & Bhosale, R. B. (2014). Design and synthesis of 1, 2, 3-triazole quinoline analogues via click chemistry approach and their antimicrobial , *Antioxidant Activities*. 7(1), 7–9.
- Simmonds, M. S. J., Blaney, W. M., Esquivel, B., & Rodriguez-Hahn, L. (1996). Effect of clerodane-type diterpenoids isolated from salvia spp. On the feeding behaviour of *Spodoptera littoralis* . *Pesticide Science*, 47(1), 17–23.
- Singh, M., Kaur, M., Kukreja, H., Chugh, R., Silakari, O., & Singh, D. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 165–188.
- Singh, M. S., Chowdhury, S., & Koley, S. (2016). Advances of azide-alkyne cycloaddition-click chemistry over the recent decade. *Tetrahedron*, 72(35), 5257–5282.
- Soberón, G., Rojas, C., Kato, M., Saavedra, J., Delgado, J. A., & Delgado, G. (2012). Larvicidal activity of *Piper tuberculatum* on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Revista Colombiana de Entomología*, 38(1), 35–41.
- Song, Y., Xu, H., Chen, W., Zhan, P., & Liu, X. (2015). 8-Hydroxyquinoline: A privileged structure with a broad-ranging pharmacological potential. *RSC Medicinal Chemistry*, 6(1), 61–74.
- Staker, B., Feese, M., Cushman, M., Pommier, Y., Zembower, D., Stewart, L., & Burgin, A. (2005). Structures of three classes of anticancer agents bound to the human topoisomerase I–DNA Covalent Complex. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48, 2336–2345.
- Staller, J. (2010). *Maize Cobs and Cultures: History of Zea mays L* (Springer, Ed.). Estados

Unidos.

Strable, J., & Scanlon, M. J. (2009). A model organism for basic and applied research in plant Biology. *CSH Protocols*, 4(10), 1–10.

Suárez, A. (2012). Reacciones de cicloadición 1,3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. *Anales de Química*, 108(4), 306–313.

Sumangala, V., Poojary, B., Chidananda, N., Fernandes, J., & Kumari, N. S. (2010). Synthesis and antimicrobial activity of 1,2,3-triazoles containing quinoline moiety. *Archives of Pharmacal Research*, 33(12), 1911–1918.

Sun, S., Lui, Q., Han, L., Ma, Q., He, S., Li, X., Wang, L. (2018). Identification and characterization of fusarium proliferatum, a new species of fungi that cause fungal keratitis. *Scientific Reports*, 8(1), 1–9.

Sussman, J., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., & Silman, I. (1991). Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: A Prototypic Acetylcholine-Binding Protein. *Science*, 253(5022) 872–879.

Thomas, K. D., Adhikari, A. V., & Shetty, N. S. (2010). Design, synthesis and antimicrobial activities of some new quinoline derivatives carrying 1,2,3-triazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(9), 3803–3810.

Tornøe, C., Christensen, C., & Meldal, M. (2002). Peptidotriazoles on solid phase:[1, 2, 3]-triazoles by regiospecific copper (I)-catalyzed 1, 3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *The Journal of Organic Chemistry*, 67(9), 3057–3064.

- Venugopala, K. N., Krishnappa, M., Nayak, S. K., Subrahmanya, B. K., Vaderapura, J. P., Chalannavar, R. K., Odhav, B. (2013). Synthesis and antimosquito properties of 2,6-substituted benzo[d]thiazole and 2,4-substituted benzo[d]thiazole analogues against *Anopheles arabiensis*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 65, 295–303.
- Vera Barrios, P. A. (2017). *Evaluación de fungicidas para el manejo de pudrición de cogollo (Phytophthora parasítica), en el cultivo de palma africana*. Universidad de Guayaquil.
- Wei, J. P., Zeng, H. P., Xu, D. F., & Liu, J. (2008). Synthesis, fluorescence properties and biological activity of 8-hydroxyquinoline conjugate bonded aromatic. *Chinese Journal of Chemistry*, 26, 1299–1304.
- Weill, M., Malcolm, C., Chandre, F., Mogensen, K., Berthomieu, A., Marquine, M., & Raymond, M. (2004). The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Molecular Biology*, 13(1), 1–7.
- Wittstock, U., Agerbirk, N., Stauber, E. J., Olsen, C. E., Hippler, M., Mitchell-Olds, T., Vogel, H. (2004). Successful herbivore attack due to metabolic diversion of a plant chemical defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(14), 4859–4864.
- Xu, Mei, Kuang, C., Wang, Z., Yang, Q., & Jiang, Y. (2011). A novel approach to 1-monosubstituted 1,2,3-triazoles by a click cycloaddition/decarboxylation process. *Synthesis*, (2), 223–228.
- Xu, Ming, Wagerle, T., Long, J. K., Lahm, G. P., Barry, J. D., & Smith, R. M. (2014). Insecticidal quinoline and isoquinoline isoxazolines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(16), 4026–4030.

- Yamaguchi, K., Oishi, T., Katayama, T., & Mizuno, N. (2009). A supported copper hydroxide on titanium oxide as an efficient reusable heterogeneous catalyst for 1,3-dipolar cycloaddition of organic azides to terminal alkynes. *Chemistry - A European Journal*, 15(40), 10464–10472.
- Yempala, T., Sriram, D., Yogeeswari, P., & Kantevari, S. (2012). Molecular hybridization of bioactives: Synthesis and antitubercular evaluation of novel dibenzofuran embodied homoisoflavonoids via Baylis – Hillman reaction. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(24), 7426–7430.
- Yu, S., Chai, X., Hu, H., Yan, Y., Guan, Z., Zou, Y., & Sun, Q. (2010). Synthesis and antifungal evaluation of novel triazole derivatives as inhibitors of cytochrome P450 14 α -demethylase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(10), 4435–4445.
- Yu, S. J. (2008). The toxicology and biochemistry of insecticides. In *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Press.
- Yu, S. J., Nguyen, S. N., & Abo-Elghar, G. E. (2003). Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 77(1), 1–11.
- Yutthapong, S., Oraphan, S., Supreeya, Y., Akkharawit, K., Kornkanok, I., & Anuchit, P. (2008). Acetylcholinesterase-Inhibiting Activity of Pyrrole Derivatives from a Novel Marine Gliding Bacterium, *Rapidithrix thailandica*. *Marine Drugs*, 6.
- Zacchino, S. A., Sortino, M. A., & Derita, M. G. (2011). *Diferentes estrategias para la búsqueda de compuestos antifungicos*.

Zhang, H., Mallik, A., & Zeng, R. Sen. (2013). Control of Panama Disease of Banana by Rotating and Intercropping with Chinese Chive (*Allium Tuberosum* Rottler): Role of Plant Volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 39(2), 243–252.