



Síntesis y actividad antiproliferativa de una mezcla de derivados de (+/-) 7-cloro-(4-tioalquilquinolina). Inducción de apoptosis y daño sobre el ADN/ARN

Resumen

Después de las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, una patología no transmisible, ha sido considerado como la segunda causa de muertes cada año a nivel global y como la barrera más importante para aumentar la esperanza de vida en el siglo 21. Se han alcanzado avances de gran relevancia en su prevención y tratamiento; sin embargo, existe aún un largo camino por recorrer para alcanzar un tratamiento efectivo para cada tipo de cáncer. En este trabajo se describen enfoques de reposicionamiento y síntesis de moléculas híbridas con potencial actividad antineoplásica. Para obtener el aldehído intermediario clave, se empleó la metodología de oxidación de Dess-Martin, que fue acoplado con las cetonas correspondientes usando LDA; se generó así una mezcla racémica para cada uno de los compuestos híbridos propuestos. La actividad antiproliferativa *in vitro* de los compuestos finales se evaluó frente a ocho líneas celulares derivadas de tumores sólidos humanos, y cuatro líneas celulares no cancerosas. El compuesto **11d** resultó ser el más efectivo y con mayor índice de seguridad. Los resultados sugirieron que estos compuestos podrían bloquear el ciclo celular e inducir la apoptosis y la muerte en las células CCRF-CEM de forma dependiente de la dosis *in vitro*.

Palabras clave: cáncer; ciclo celular; derivados sulfanilos; mezcla racémica.

Synthesis and antiproliferative activity of a mixture of (+/-) 7-chloro-(4-thioalkylquinoline) derivatives. Inducing apoptosis and DNA/RNA damage

Abstract

After cardiovascular diseases, cancer, a non-communicable pathology, has been considered the second cause of death each year globally and as the most important barrier to increasing life expectancy in the 21st century. Advances of great relevance have been made in its prevention and treatment, however, there is still a long way to go to achieve an effective treatment for each type of cancer. This paper describes approaches to reposition and synthesis of hybrid molecules with potential antineoplastic activity. To obtain the key intermediate aldehyde, the Dess-Martin oxidation methodology was used, which was coupled with the corresponding ketones using LDA. The final hybrid compounds were obtained as a racemic mixture. The *in vitro* antiproliferative activity of the final compounds was evaluated against eight cell lines derived from human solid tumors, and four non-cancerous cell lines. The compound **11d** turned out to be the most effective and with the highest safety index. The results suggested that these compounds could block the cell cycle and induce apoptosis and death in CCRF-CEM cells in a dose-dependent manner *in vitro*.

Keywords: cancer; cell cycle; sulfanyl derivatives; racemic mixture.

Síntese e atividade antiproliferativa de uma mistura de derivados de (+/-) 7-cloro-(4-tioalquilquinolina). Indução de apoptose e dano de DNA/RNA

Resumo

Depois das doenças cardiovasculares, o câncer, uma patologia não transmissível, tem sido considerado como a segunda causa de mortes a cada ano em todo o mundo e como a barreira mais importante para o aumento da expectativa de vida no século 21. Avanços de grande relevância têm sido feitos na sua prevenção e tratamento, no entanto, ainda há um longo caminho a percorrer para alcançar um tratamento eficaz para cada tipo de câncer. Este artigo descreve abordagens para o reposicionamento e síntese de moléculas híbridas com potencial atividade antineoplásica. Para a obtenção do aldeído intermediário chave, foi utilizada a metodologia de oxidação de Dess-Martin, que foi acoplada com as cetonas correspondentes usando LDA. Os compostos híbridos finais foram obtidos como uma mistura racêmica. A atividade antiproliferativa *in vitro* dos compostos finais foi avaliada contra oito linhagens celulares derivadas de tumores sólidos humanos e quatro linhagens celulares não cancerosas. O composto **11d** revelou-se o mais eficaz e com o maior índice de segurança. Os resultados sugeriram que estes compostos poderiam bloquear o ciclo celular e induzir apoptose e morte em células CCRF-CEM de forma dose-dependente *in vitro*.

Palavras-chave: câncer; ciclo celular; derivados sulfanilos; mistura racêmica.

Introducción

El cáncer es un término genérico empleado para definir a un grupo de enfermedades caracterizadas por el crecimiento y diseminación descontrolada de células anormales, que pueden afectar cualquier parte del organismo y que sin un tratamiento adecuado pueden provocar la muerte. Aunque las causas del desarrollo del cáncer no han sido completamente dilucidadas, se sabe que numerosos factores aumentan el riesgo, pues actúan de manera simultánea para iniciar y/o promover su crecimiento, incluidos muchos que son potencialmente evitables, como el consumo de tabaco, alcohol, el exceso de peso corporal y el sedentarismo, y otros que no lo son, por ejemplo, las mutaciones genéticas y las afecciones virales, entre otros factores. El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo y representó casi diez millones de muertes en 2020 [1]. La proyección de la Sociedad Americana del Cáncer estima que para 2023 se reportarán 1.958.310 nuevos casos, con un número de fallecidos en el orden de los 609.820. El tipo de cáncer que sufrirá un mayor incremento será el cáncer de próstata, con un 3 %, después de haber tenido una disminución en estas últimas dos décadas [2].

Se estima que existen dos causas del desarrollo anormal en cánceres humanos: la primera es la alteración de las vías de señalización en las células y la segunda es la interrupción del ciclo celular [3], [4]. La farmacoresistencia es considerada otra de las principales dificultades en la terapia del cáncer; puede desarrollarse en todos los tipos de cáncer y en estrategias terapéuticas como la inmunoterapia, la terapia molecularmente dirigida y la quimioterapia [5]. Son muchos los esfuerzos que se han hecho para reducir los efectos adversos durante la terapia contra el cáncer, entre ellos, la prevención de los efectos secundarios en las células y tejidos cercanos, el aumento de la acumulación de fármacos y la eficacia en la lesión, así como el desarrollo de nuevos sistemas de administración y focalización de fármacos [6]. Para alcanzar estos objetivos, un proceso que ha recibido gran atención en estos últimos tiempos es el relacionado con el “reposicionamiento”, que consiste en encontrar nuevas indicaciones terapéuticas para los medicamentos utilizados clínicamente en el tratamiento de patologías diferentes al cáncer [7]-[11]. Otra estrategia alternativa para el desarrollo de nuevos fármacos es el enfoque de hibridación, que ha demostrado ser exitoso para el desarrollo de agentes biológicamente eficaces [12], [13]. El término “fármaco híbrido” generalmente se refiere a la combinación de dos o más moléculas biológicamente activas o dos grupos farmacofóricos de diferentes compuestos en una molécula. La combinación da como resultado una nueva molécula, ahora conocida como híbrida, que puede ser más potente, menos potente o idéntica a su compuesto precursor. En las moléculas híbridas, un conector puede estar presente (híbridos con enlazadores) o no (híbridos fusionados), o pueden estar fusionados (quiméricos) [14]-[19].

Como fragmento privilegiado, la quinolina es una molécula plana rígida, que se comporta como un farmacóforo presente en el núcleo de numerosos agentes fisiológicamente activos que muestran interesantes propiedades terapéuticas; por ejemplo, la cloroquina (CQ) **1**, hidroxicloroquina (HCQ) **2**, camptotecina **3**, levatinib **4** [20]-[23] (Figura 1). Del mismo modo, cuando las quinolinas están constituidas en su estructura, con heteroátomos como el azufre, han resultado ser efectivas en modelos de enfermedades en donde su mecanismo de acción se ha asociado con la inhibición de la formación de β -hematina, inhibición de la adhesión, migración, e invasión celular, inducción de apoptosis, estrés oxidativo, por su acción antipalúdica y antituberculosa, como agentes hipocolesterolémicos, y por su actividad antiproliferativa contra células cancerosas [24]-[32].

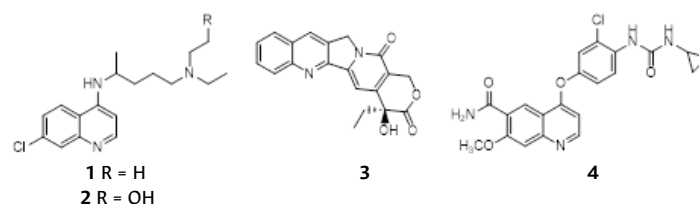


Figura 1. Moléculas con el núcleo de la quinolina con diferentes actividades biológicas.

Otro núcleo privilegiado está constituido por la indanona, que en combinación con aldehídos genera las arilidenindanonas, que son consideradas como las primas rígidas de las chalconas y se generan incorporando al sistema α,β -insaturado cetónico de chalconas un anillo cíclico de cinco miembros. Generalmente son sintetizadas a partir de 1-indanona y benzaldehídos por medio de una reacción aldólica, por ejemplo, los compuestos **5** y **6** con actividad para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y antineoplásicos, respectivamente [33], [34]. En la naturaleza encontramos algunas indanonas como la pterosina P **7** aislada del hehecho de la especie *Pteridium aquilinum* [35]-[37], con actividad como antibacteriano, antiespasmódico, citotóxica, entre otras actividades [38], [39] (Figura 2).

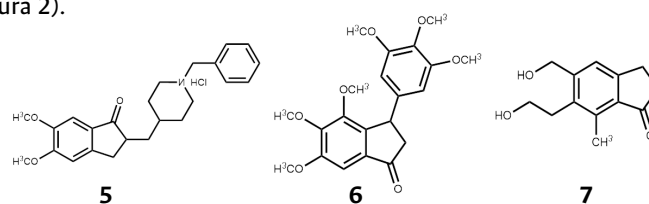


Figura 2. Moléculas con el núcleo de la 1-indanona con diferentes actividades biológicas.

En este trabajo presentamos el diseño y síntesis de nuevas moléculas que busca optimizar aún más los agentes anticancerígenos basados en la CQ; en ellas se modificó selectivamente la cadena lateral de la funcionalidad cuatro amino con un grupo que contiene azufre y la incorporación de indanonas metoxisustituídas (Figura 1). Seleccionamos este enfoque fundamentándonos en el hecho de que a los análogos de CQ sustituidos por 4-sulfanilindanonas aún no les ha sido explorada en profundidad su actividad anticancerígena. Se pudo observar que algunos de ellos muestran actividad antiproliferativa más efectiva que la CQ y la indanona individualmente; en el estudio de su potencial mecanismo de acción se pudo observar que existe una acumulación significativa de células en fases G2/M, que se acompañó de un aumento de células con G0/G1, y una disminución de S, ADN y contenido de ARN. Además, los compuestos indujeron distintos valores sub-G1, que representan la población de células apoptóticas y muertas.

Materiales y métodos

Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro Fisher-Johns^{MR} y no están corregidos. La cromatografía en capa fina (CCF) se llevó a cabo en placas Merck^{MR} sílica F²⁵⁴ de 0,255 mm y las manchas se visualizaron mediante fluorescencia UV a 254 nm. Los espectros IR se determinaron mediante un espectrofotómetro Perkin-Elmer^{MR} Spectrum two y se expresan en cm⁻¹. Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C se realizaron usando un espectrómetro JEOL Eclipse^{MR} 270 (a 270 MHz para espectros de ¹H y 67,9 MHz para espectros de ¹³C), usando CDCl₃ como solvente, y se reportan en ppm empleando como referencia el CHCl₃ residual (δ 7,25 para RMN ¹H y 77,0 para RMN ¹³C, respectivamente). Los reactivos químicos se obtuvieron de Aldrich Chemical Co^{MR}, EE.UU. de Norteamérica. Todos los disolventes se destilaron y secaron de la manera habitual. El intermediario **8** ha sido reportado previamente [40].

Procedimiento general para la obtención de los derivados 2-{3-[(7-cloroquinolin-4-il) sulfanil] -1-hidroxipropil}-indanosustituida-2,3-dihidro -1H-inden-1-ona (11a-e)

Para la obtención del aldehído **9**, se disolvió el intermediario **8** (1 Eq) en 20 mL de diclorometano (DCM) seco, se agregó 10 Eq de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), 1,2 Eq de reactivo de Dess-Martin (DMP), en 5 mL DCM seco; la mezcla se mantuvo con agitación constante por 30 min a temperatura ambiente y atmósfera de N₂. Finalizada la reacción, se lavó con solución saturada de Na₂S₂O₃ (4×10 mL), solución saturada de NaHCO₃ (2×10 mL), y con agua destilada (2×10 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y el solvente se eliminó a presión reducida [41]. Debido a su inestabilidad, el compuesto **9** se usó sin previa caracterización.

Paralelamente, se procedió a sintetizar la diisopropilamina de litio (LDA), que se obtuvo al hacer reaccionar diisopropilamina seca 1 Eq (la diisopropilamina se secó con hidruro de calcio a 120 °C y posterior destilación a presión normal) y n-butilitio 1 Eq (disuelto en tolueno 1,6 M), a -78 °C, en atmósfera de Ar y agitación continua por 20 min. Se agregó gota a gota, por medio de una inyectora, la indanona respectiva **10a-e** (0,85 Eq) disuelta en 2 mL de THF seco en un tiempo de 15 min; seguidamente se adicionó el aldehído **9** disuelto en 1 mL de THF seco; la mezcla de reacción se agitó por 30 min hasta que la temperatura alcanzó los -50 °C [42]. La reacción se monitoreó por CCF; finalizada la reacción se adicionó al balón una solución saturada de cloruro de amonio (NH₄Cl, 10 mL), además de una mezcla de acetato de etilo AcOEt:agua (1:1) (15 mL). La fase orgánica se separó y se trató con Na₂SO₄ anhidro; se filtró y evaporó el solvente a presión reducida. El sólido obtenido se purificó utilizando cromatografía de columna, con mezclas de ciclohexano:acetato de etilo (Cy:AcOEt); se obtuvo una mezcla de diastereoisómeros con rendimientos que van desde 55 % a un 75 % [43], [44].

(+/-)-2-{10-[(7-cloroquinolin-4-il)sulfanil]-8-hidroxipropil}-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona **11a**

Sólido cristalino blanco. Purificación por columna: 100% Cy, 85:15, 75:25, 65:35, 3:2 Cy:AcOEt. Rendimiento: 75%. Punto de fusión: 173 - 175 °C. Infrarrojo (cm⁻¹): 3406 (-OH), 2923 (C-H alifática), 1691 (C=O). RMN ¹H (270 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2,02-2,09 (m, 4H, H₉); 2,71-2,88 (m, 2H, H₂); 3,17-3,42 (m, 8H, H₃, 10); 3,98-4,04 (m, 1H, H₈); 4,54-4,57 (m, 1H, H₈); 4,73 (sa, 1H, OH); 7,17 (d, 1H, H_{3'}, J = 4,94 Hz); 7,26 (d, 1H, H_{3'}, J = 4,94 Hz); 7,31-7,48 (m, 6H, H₄, 6, 6'); 7,60 (d, 1H, H₆, J = 7,18 Hz); 7,71 (d, 1H, H₇, J = 7,67 Hz); 7,76 (d, 1H, H₇, J = 7,67 Hz); 7,98 (d, 1H, H_{5'}, J = 8,91 Hz); 7,98-8,02 (m, 3H, H_{5'}, 8' x 2); 8,65; 8,69 (d, 1H, H_{2'}, J = 4,94 Hz). RMN ¹³C (68 MHz, CDCl₃) δ ppm: 27,0(C3 ó 10); 27,6(C3 ó 10); 27,9(C3 ó 10); 29,8(C3 ó 10); 33,4(C9); 34,5(C9); 51,7(C2); 53,2(C2); 69,6(C8); 71,4(C8); 116,2(C3'); 123,9(C7); 124,2(C7); 125,0(C5' ó 8'); 125,1(C5' ó 8'); 126,6(C6' ó 4 ó 6); 126,7(C6' ó 4 ó 6); 127,3(C6' ó 4 ó 6); 127,3(C6' ó 4 ó 6); 127,6(C6' ó 4 ó 6); 127,9(C6' ó 4 ó 6); 128,9(C5' ó 8'); 135,2(C5); 135,6(C5); 135,8; 135,8; 136,4; 137,1; 147,9; 147,9; 148,0; 150,2(C2); 150,3(C2); 153,5; 153,4; 207,6(C1); 209,6(C1). F.M: C₂₁H₁₈ClNO₂S, P.M: 383,89 g/mol.

(+/-)-2-{10-[(7-cloroquinolin-4-il)sulfanil]-8-hidroxipropil}-5-metoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona **11b**

Sólido cristalino blanco. Purificación por columna: 100% Cy, 4:1,3:2, 1:1, 2:3, 3:7 Cy:AcOEt. Rendimiento: 65%. Punto de fusión: 158 - 160 °C. Infrarrojo (cm⁻¹): 3375 (-OH), 2925 (C-H alifática), 1677 (C=O), 1026 (ar C-O-C al). RMN ¹H (270 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1,94-2,06 (m, 4H, H₉); 2,65-2,86 (m, 2H, H₂); 3,10-3,27 (m, 4H, H₃); 3,35-3,41 (m, 4H, H₁₀); 3,86 (s, 3H, OMe), 3,92-4,01 (m, 1H, H₈); 4,46-4,53 (m, 1H, H₈); 4,90 (sa, 1H, OH); 6,83-6,91 (m, 4H,

H₄, 6); 7,18 (d, 1H, H_{3'}, J = 4,67 Hz); 7,22 (d, 1H, H₃, J = 4,67 Hz); 7,45 (dd, 2H, H_{6'}, J = 1,97, 8,91 Hz); 7,62 (d, 1H, H₇, J = 8,67 Hz); 7,68 (d, 1H, H₇, J = 8,67 Hz); 7,97 (d, 1H, H_{5'}, J = 8,91 Hz); 7,99-8,02 (m, 3H, H_{5'}, 8' x 2); 8,65 (d, 1H, H_{2'}, J = 4,94 Hz); 8,68 (d, 1H, H_{2'}, J = 4,94 Hz). RMN ¹³C (68 MHz, CDCl₃) δ ppm: 27,0(C3 ó 10); 27,7(C3 ó 10); 27,9(C3 ó 10); 29,8(C3 ó 10); 33,3(C9); 34,6(C9); 51,6(C2); 53,2(C2); 55,8(OMe); 69,8(C8); 71,6(C8); 109,7(C4 ó 6); 109,9(C4 ó 6); 115,7(C3'); 116,0(C4 ó 6); 116,2(C4 ó 6); 125,0(C5' ó 8'); 125,1(C5' ó 8'); 125,6(C7); 125,9(C7); 127,3(C6'); 127,3(C6'); 128,9(C5' ó 8'); 130,4; 135,7; 148,0; 150,2(C2); 150,3(C2); 156,6; 157,4; 165,9; 166,2; 205,7(C1); 207,3(C1); F.M: C₂₂H₂₀ClNO₃S, P.M: 413,92 g/mol.

(+/-)-2-{10-[(7-cloroquinolin-4-il)sulfanil]-8-hidroxipropil}-4,5-dimetoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona **11c**

Sólido amarillo. Purificación por columna: 100% Cy, 95:5,9:1, 85:15, 4:1, 75:25, 7:3, 65:35, 3:2, 55:45, 1:1, 45:55, 2:3, 35:65, 3:7 Cy:AcOEt. Rendimiento: 60%. Punto de fusión: 130 - 132 °C. Infrarrojo (cm⁻¹): 3392 (-OH), 2927 (C-H alifática), 1693 (C=O), 1081 (ar C-O-C al). RMN ¹H (270 MHz, CD₃OD) δ ppm: 1,97-2,04 (m, 2H, H₉); 2,20-2,27 (m, 2H, H₉); 2,97-3,08 (m, 2H, H₂); 3,23-3,25 (m, 4H, H₃); 3,35-3,53 (m, 4H, H₁₀); 3,88 (s, 3H, OMe); 3,94 (s, 3H, OMe); 4,18-4,21 (m, 2H, H₈); 4,39-4,42 (m, 1H, OH); 7,12 (d, 2H, H₆, J = 8,42 Hz); 7,45 (d, 2H, H₇, J = 8,40 Hz); 7,75-7,77 (m, 4H, H_{3'}, 6'); 8,05 (d, 2H, H_{8'}, J = 1,97 Hz); 8,31 (d, 2H, H_{5'}, J = 8,88 Hz); 8,77 (d, 2H, H_{2'}, J = 5,70 Hz). RMN ¹³C (68 MHz, CD₃OD) δ ppm: 25,9(C3 ó 10); 27,9(C3 ó 10); 31,7(C9); 52,4(C2); 55,6(OMe); 59,3(OMe); 70,7(C8); 112,9(C6); 115,9(C3'); 119,9(C7); 122,7(C8'); 124,6; 125,6(C5'); 128,6(C6'); 130,9; 145,3; 147,1(C2'); 158,3; 206,2(C1). F.M: C₂₃H₂₂ClNO₄S, P.M: 443,94 g/mol.

(+/-)-2-{10-[(7-cloroquinolin-4-il)sulfanil]-8-hidroxipropil}-4,7-dimetoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona **11d**

Sólido marrón. Purificación por columna: 100% Cy, 4:1, 7:3, 3:2, 55:45, 1:1, 4:3 Cy:AcOEt. Rendimiento: 69%. Punto de fusión: 143 - 145 °C. Infrarrojo (cm⁻¹): 3243 (-OH), 2921 (C-H alifática), 1695 (C=O), 1026 (ar C-O-C al). RMN ¹H (270 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2,04-2,10 (m, 4H, H₉); 2,62-2,83 (m, 2H, H₂); 2,98- 3,15 (m, 4H, H₃); 3,30- 3,46 (m, 4H, H₁₀); 3,82 (s, 3H, OMe); 3,89 (s, 3H, OMe); 3,96-4,12 (m, 1H, H₈); 4,40- 4,55 (m, 1H, H₈); 4,94 (sa, 1H, OH); 6,68 (d, 1H, H₅, J = 8,91 Hz); 6,73 (d, 1H, H₅, J = 8,91 Hz); 6,97 (d, 1H, H₆, J = 8,64 Hz); 7,01 (d, 1H, H₆, J = 8,64 Hz); 7,40-7,42 (m, 2H, H_{3'}); 7,53 (dd, 2H, H_{6'}, J = 9,13 Hz); 8,06 (d, 2H, H_{5'}, J = 8,88 Hz); 8,27 (sa, 2H, H_{8'}); 8,68 (d, 2H, H_{2'}, J = 5,43 Hz). RMN ¹³C (68 MHz, CDCl₃) δ ppm: 24,3(C3 ó 10); 26,2(C3 ó 10); 27,3(C3 ó 10); 28,1(C3 ó 10); 33,2(C9); 34,3(C9); 51,5(C2); 53,2(C2); 56,0(OMe); 56,1(OMe); 69,8(C8); 71,4(C8); 109,7(C5); 110,1(C5); 115,5(C3'); 117,4(C6) 117,8(C6) 124,8(C5' ó 8'); 125,1(C5' ó 8'); 125,4(C5' ó 8'); 126,1(C5' ó 8') 128,6(C6'); 128,7(C6'); 143,9; 146,7(C2'); 150,3; 150,6; 151,8; 152,1; 207,3(C1). F.M: C₂₃H₂₂ClNO₄S, P.M: 443,94 g/mol.

(+/-)-2-{10-[(7-cloroquinolin-4-il)sulfanil]-8-hidroxipropil}-5,6-dimetoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona **11e**

Sólido amarillo. Purificación por columna: 100% Cy, 4:1,7:3, 3:2, 55:45, 1:1, 45:55, 2:3, 35:65, 3:7 Cy:AcOEt. Rendimiento: 55%. Punto de fusión: 142 - 143 °C. Infrarrojo (cm⁻¹): 3263 (-OH), 2923 (C-H alifática), 1687 (C=O), 1030 (ar C-O-C al). RMN ¹H (270 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1,94-2,04 (m, 4H, H₉); 2,61-2,73 (m, 1H, H₂); 2,84-2,88 (m, 1H, H₂); 3,04-3,28 (m, 4H, H₃); 3,37-3,42 (m, 4H, H₁₀); 3,84 (s, 3H, OMe); 3,89 (s, 3H, OMe); 3,91-3,99 (m, 1H, H₈); 4,46-4,52 (m, 1H, H₈); 4,87 (sa, 1H, OH); 6,83 (s, 1H, H₄); 6,87 (s, 1H, H₄) 7,08 (s, 1H, H₇); 7,14 (s, 1H, H₇); 7,19 (d, 1H, H_{3'}, J = 4,70 Hz); 7,27 (d, 1H, H_{3'}, J = 4,70 Hz); 7,45 (dd, 2H, H_{6'}, J = 1,73, 8,91 Hz); 7,99 (d, 1H, H_{5'}, J = 8,88 Hz); 8,01-8,03 (m, 3H, H_{5'}, 8' x 2); 8,65

(d, 1H, H2', $J = 4,70$ Hz); 8,69 (d, 1H, H2', $J = 4,70$ Hz). RMN ^{13}C (68 MHz, CDCl_3) δ ppm: 27,0(C3); 27,5(C3); 27,9(C10); 29,6(C10); 33,3(C9); 34,7(C9); 51,8(C2); 53,2(C2); 56,2(OMe); 56,3(OMe); 69,9(C8); 71,6(C8); 104,4(C7); 104,6(C7); 107,4(C4); 107,6(C4); 116,2(C3'); 116,2(C3''); 125,0(C5'); 125,1; 127,3(C6'); 127,3(C6''); 128,9(C8'); 129,0; 129,8; 135,8; 135,8; 148,0; 149,1; 149,8; 150,0; 150,1; 150,2(C2'); 150,2(C2''); 156,2; 156,5; 206,0(C1); 207,6(C1). F.M: $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClNO}_4\text{S}$, P.M: 443,94 g/mol.

Actividad biológica

Líneas celulares

Todas las líneas celulares fueron suministradas por la American Tissue Culture Collection (ATCC). La línea celular A549 es derivada de adenocarcinoma de pulmón. Las líneas celulares MRC-5 y BJ se utilizaron como control no tumoral y representan fibroblastos humanos. MRC-5 LD y BJLD son líneas celulares de fibroblastos de pulmón humano resistentes a la doxorrubicina. La línea CCRF-CEM se deriva de la leucemia linfoblástica T, con una alta quimiosensibilidad, mientras que K562 representa células de una muestra de paciente con leucemia mieloide aguda con translocación bcr-abl. La sublínea resistente a daunorrubicina de células CCRF-CEM (CEM-DNR bulk) y la sublínea resistente a paclitaxel K562-TAX fueron seleccionadas mediante el cultivo de líneas celulares maternas en concentraciones crecientes de daunorrubicina o paclitaxel, respectivamente. Las células CEM-DNR sobreexpresan MRP-1 y proteína P-glicoproteína, mientras que las células K562-TAX sobreexpresan solo la glicoproteína P. Ambas proteínas pertenecen a la familia de transportadores ABC y están implicadas en el fenómeno primario y/o adquirido de resistencia a múltiples fármacos. La línea celular U2OS se deriva de osteosarcoma, HCT116 es una línea celular tumoral colorrectal y su contraparte (HCT116p53-/-, Horizon Discovery Ltd, Reino Unido) es un modelo de cánceres humanos con mutación del gen p53 que frecuentemente es asociada con mal pronóstico [45], [46]. Las células se mantuvieron en matraces plásticos nunc/corning de 80 cm² para cultivo de tejido y se cultivaron en un medio de cultivo celular de acuerdo con las recomendaciones ATCC u Horizon (DMEM/RPMI 1640 con 5 g/L de glucosa, 2 mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina, 100 mg/mL de estreptomycin, 10% de suero fetal de ternera y NaHCO_3) [45]-[48].

Ensayo de citotoxicidad empleando MTS

La actividad de los compuestos se determinó utilizando 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazolio (MTS) y se realizó en el Instituto de Medicina Molecular y Traslacional mediante una plataforma robótica (High-ResBiosolutions). Las suspensiones celulares se prepararon y diluyeron de acuerdo con el tipo de célula en particular y la densidad celular objetivo esperado (25000-35000 células/mL según las características de crecimiento celular). Las células se añadieron mediante pipeta automática (30 μL) en placas de microtitulación de 384 pozos. Todos los compuestos ensayados se disolvieron en DMSO al 100% y se añadieron diluciones cuádruples de la concentración de ensayo prevista en alícuotas de 0,15 μL en el momento cero a los pozos de la placa de microtitulación mediante el manipulador de líquidos sin contacto eco-acústico Echo550 (Labcyte^{MR}). Los experimentos se realizaron en duplicados y tres réplicas biológicas al menos. Las células se incubaron con los compuestos ensayados durante 72 h a 37 °C, en una atmósfera de CO_2 al 5% al 100% de humedad. Al final del período de incubación, las células se analizaron mediante la prueba MTS. Las alícuotas (5 μL) de la solución madre MTS se pipetearon en cada pozo y se incubaron durante 1-4 h adicionales. Después de este período de incubación, la densidad óptica (DO) se midió a 490 nm con un lector Envision (PerkinElmer^{MR}). La supervivencia de las células tumorales (SCT) se calculó mediante la siguiente ecuación: $\text{SCT} = (\text{pozo expuesto a DOdrug}/\text{pozos DOcontrol medios}) \times 100\%$.

El valor de CI_{50} , la concentración compuesta que es letal para el 50% de las células tumorales, se calculó a partir de las curvas de dosis-respuesta apropiadas en el software Dotmatics [45]-[48].

Análisis del ciclo celular y de la apoptosis

Las células CCRF-CEM se sembraron a una densidad de 1×10^6 células por mL en placas de seis pozos (TTP) y se cultivaron con compuestos en concentraciones correspondientes a $1 \times$ ó $5 \times$ valor CI_{50} . Junto con las células tratadas con compuestos, se recolectó una muestra tratada con vehículo en el mismo punto de tiempo. Después de 24 h, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato frío (PBS) y se fijaron en etanol al 70% añadido gota a gota y almacenado durante la noche a -20 °C. Posteriormente, las células se lavaron en tampón de citrato hipotónico, se trataron con RNasa (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y se tiñeron con yoduro de propidio. Para la medición se utilizó citometría de flujo utilizando un láser de haz único de 488 nm (Becton Dickinson^{MR}). El ciclo celular fue analizado por el software ModFitLT (Verity^{MR}), y la apoptosis se midió en un modelo logarítmico que expresa el porcentaje de partículas con contenido de propidio inferior al de las células en la fase G0/G1 (<G1) del ciclo celular. La mitad de la muestra se utilizó para el marcado de anticuerpos pH3Ser10 (Sigma^{MR}) y el posterior análisis de citometría de flujo de las células en mitosis [46].

Análisis de incorporación de BrDU

Las células se cultivaron y procesaron como se describe en el método anterior [45]-[48]. Antes de la cosecha, se agregó 5-bromo-2-deoxiuridina (BrDU) 10 μM a las células para el marcado de pulsos durante 30 min. Luego, las células se lavaron con PBS y se fijaron con etanol frío al 70% de -20 °C y se almacenaron en un congelador durante la noche. Antes del análisis, las muestras se incubaron en hielo durante 30 min, se lavaron una vez con disolución salina tamponada con fosfato (PBS) y se volvieron a suspender en HCl 2 M durante 30 min a temperatura ambiente (T_a) para desnaturalizar su ADN. Después de la neutralización con una solución de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (bórax) 0,1 M, las células se lavaron con PBS que contenía 0,5% de Tween-20 y 1% de albúmina de suero bovino (BSA). A continuación, se realizó la tinción con anticuerpo primario anti-BrDU (Exbio) durante 30 min a T_a en la oscuridad. Luego, las células se lavaron con PBS y se tiñeron con anticuerpos secundarios anti-ratón-FITC (Sigma^{MR}) a T_a y en la oscuridad. Después de otro lavado con PBS e incubación con yoduro de propidio (0,1 mg/mL) y RNasa A (0,5 mg/mL) durante 1 h a T_a en la oscuridad, las células se analizaron mediante citometría de flujo utilizando un láser de haz único de 488 nm (FACSCalibur, Becton Dickinson^{MR}, Franklin Lakes, NJ, EE.UU).

Análisis de incorporación de BrU

Las células se cultivaron y trataron como se describió anteriormente [45]-[48]. Antes de la cosecha, siguió el etiquetado de pulsos con 1 mM de 5-bromouridina (BrU) durante 30 min. Las células se fijaron en paraformaldehído tamponado al 1% con NP-40 al 0,05% a T_a durante 15 min, y luego se almacenaron a 4 °C durante la noche. Antes de la medición, se lavaron con glicina al 1% en PBS, se lavaron con PBS nuevamente y se tiñeron con anticuerpos primarios anti-BrDU de reacción cruzada a BrU (Exbio) durante 30 min a T_a en la oscuridad. A partir de este punto, el experimento se realizó exactamente como en el método anterior.

Resultados y discusión

Síntesis

Para la síntesis de los derivados **11a-e**, se realizaron varios intentos a fin de alcanzar el aldehído respectivo **9**; entre los procedimientos empleados se mencionan diferentes agentes oxidantes, como el ácido 2-iodobenzóico (IBX), ácido 2-iodobenzóico estabilizado (SIBX), reacción de swern y el reactivo de Dess-Martin (DMP);

sin embargo, el mejor resultado fue encontrado con el reactivo de DMP, con el cual se obtuvo el compuesto **9** (Figura 3); debido a su inestabilidad no fue posible su purificación, por lo que se usó sin caracterización previa en el siguiente paso de reacción. La reacción de condensación se realizó con diferentes indanonas **10a-e**, empleando como base di-isopropilamina de litio (LDA), en tetrahidrofurano (THF) seco, atmosfera de Ar, a una temperatura de -78°C . La reacción se completa en un período de 50 min aproximadamente, con rendimientos que van desde 55 a 75%. Obtenida la mezcla de diastereoisómeros, se realizaron intentos para separar dicha mezcla, por medio de una columna cromatográfica, en donde se elevó progresivamente la polaridad de la fase móvil, pero no se obtuvo la separación deseada.

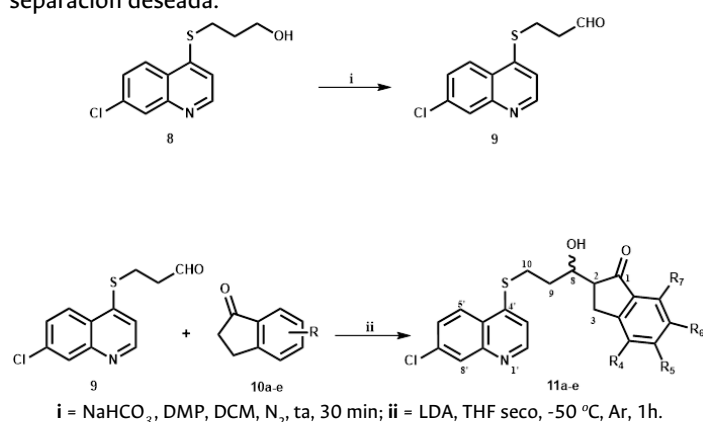


Figura 3. Síntesis de los derivados **11a-e**.

No	R_4	R_5	R_6	R_7
11a	H	H	H	H
11b	H	OCH_3	H	H
11c	OCH_3	OCH_3	H	H
11d	OCH_3	H	H	OCH_3
11e	H	OCH_3	OCH_3	H

El compuesto 2-[(7-cloroquinolin-4-il)sulfanil]8-hidroxi-5,6-dimetoxi-2,3-dihidro-1H-inden-1-ona (**11e**) se empleará como modelo para ilustrar la discusión. Este compuesto se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros con una fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClNO}_4\text{S}$, como un sólido amarillo, soluble en DCM, su punto de fusión fue de $142\text{--}143^{\circ}\text{C}$ y se obtuvo con un rendimiento de 55%. En el espectro de IR se observaron: una banda intensa a 3263 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento O-H, a 2923 cm^{-1} aparece una banda característica de estiramientos C-H de la zona alifática, a 1687 cm^{-1} una banda típica de carbono carbonílico $\text{C}=\text{O}$ de cetona, y a 1030 cm^{-1} la banda correspondiente a los estiramientos C-O-C de los grupos metoxi presentes en la molécula. Cuando se procede a analizar el espectro de RMN ^1H , se observa que varias señales aparecen duplicadas, lo que se atribuye a que el compuesto se encuentra bajo la forma de una mezcla de diastereoisómeros. El espectro nos muestra a campo alto un multiplete con un desplazamiento químico desde 1,94 a 2,04 ppm, que integra para 4H, que se asignó a los protones enlazados al carbono nueve; entre 2,61-2,73 y 2,84-2,88 ppm se observan dos multipletes que integran para 1H cada uno, asignado al protón sobre el carbono dos del anillo de la indanona, entre 3,04-3,28 ppm se presenta un multiplete que integra para 4H, que fue asignado a los protones unidos al carbono tres de la indanona. Entre 3,37-3,42 ppm se tiene un multiplete que integra para 4H asignados a los protones sobre el carbono diez en la cadena alifática. A 3,84 y 3,89 ppm se observan dos singletes que integran para 6H cada uno, que fueron asignados a los grupos metoxi en las posiciones cinco y seis del anillo de la indanona. A 3,91-3,99 y 4,46-4,52 ppm se observan dos multipletes que integran para 1H cada uno, los cuales fueron asignados al protón del carbono ocho presente en la cadena alifática. Y, para finalizar, en la zona alifática se

muestra un singlete ancho a 4,87 ppm, que se asigna al protón del grupo hidroxilo en el compuesto **11e**. A campo bajo se presentan seis señales que se asignan a siete protones aromáticos. A 6,83 y 6,87 ppm se presentan dos singletes que integran cada uno para 1H, asignado al protón cuatro, y seguidamente, a 7,08 y 7,14 ppm, otros dos singletes que integran para 1H cada uno asignado al protón siete presente en el anillo de la indanona. En cuanto a los protones del anillo quinolínico, las señales se encuentran duplicadas, pero no se observa una diferencia significativa en lo que respecta a los desplazamientos y la multiplicidad, al ser comparada con los espectros de los compuestos quinolínicos previamente discutidos.

En el espectro de RMN ^{13}C se confirma igualmente la presencia de los productos de condensación, con base en la presencia de cuatro señales a 27,0 y 27,5 ppm, que se asigna al carbono tres del anillo de la indanona, a 51,8 y 53,2 ppm el carbono dos, a 69,9 y 71,6 ppm las señales correspondientes al carbono ocho y en 206,0 y 207,6 ppm las señales correspondientes al C carbonílico de la cetona. Todas estas señales se encuentran duplicadas por presentar una mezcla de diastereoisómeros en la muestra. En el espectro se observan 38 señales totales pertenecientes a los carbonos no equivalentes en el compuesto **11e**, dentro de lo que cabe mencionar que dos corresponden con los carbonos metílicos de los grupos metoxi, seis se corresponden con carbonos metilénicos, 16 con carbonos metínicos y 14 señales que indican el número de carbonos cuaternarios. A 27,9 y 296 ppm se muestran dos señales asignadas al carbono diez. A 33,3 y 34,7 ppm se observan las señales asignadas al carbono nueve. A 56,2 y 56,3 ppm se tienen las señales de los grupos metoxi que se encuentran unidos en las posiciones cinco y seis del anillo de la indanona. En lo que respecta a la zona aromática se evidencian dos señales en 104,4 y 104,6 ppm asignada al carbono siete y a 107,4 y 107,6 ppm se tienen dos señales que son asignadas al carbono cuatro, correspondientes al anillo de la indanona. Las señales asignadas a los protones metínicos del anillo quinolínico no presentan diferencias significativas en los desplazamientos cuando se comparan con los del compuesto reportados previamente. En cuanto a las diferencias de los desplazamientos de los carbonos en la estructura de los derivados **11a-e**, se observa diferencia en los desplazamientos y multiplicidad que se atribuye al patrón de sustitución presente sobre el anillo aromático de la indanona. Estas asignaciones inequívocas se realizaron apoyándonos además en el análisis de los espectros DEPT 135°, COSY, HETCOR.

Actividad citotóxica

La actividad citotóxica *in vitro* de los compuestos finales **11a-e** se evaluó después de tres días de incubación frente a ocho líneas celulares derivadas de tumores sólidos humanos, incluidos carcinomas de pulmón (células A549) y colon (HCT116 y HCT116p53-/-), así como líneas celulares de leucemia (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 y K562-TAX) y osteosarcoma (células U2OS). A modo de comparación, se usaron líneas celulares resistentes a la doxorrubicina de fibroblastos BJ y MRC-5 no malignos y de fibroblastos BJLD y MCR-5LD. Las concentraciones que inhiben el crecimiento celular en un 50% (CI_{50}) se determinaron mediante una tinción metabólica cuantitativa con 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS) y se resumen en la Tabla 1.

Los resultados mostraron que la línea celular CCRF-CEM fue la más sensible a los derivados de **11a, c-d**. Con la excepción del compuesto **11d** con un valor de CI_{50} en el rango de 11,2 μM , los compuestos fueron menos activos contra sus homólogos CEM-DNR resistentes a la daunorrubicina. Con algunas excepciones, en el caso de las células K562 y la correspondiente línea celular K562-TAX resistente a taxol, se observó una diferencia significativa para el derivado **11b** con un valor dos veces mayor contra K562-TAX que la línea celular K562. Por otro lado, con la excepción de **11b y d** los compuestos

Tabla 1. Actividad citotóxica (CI₅₀, μM) de derivados de 11a-e después de 72 h de incubación con líneas celulares humanas cancerosas y no cancerosas.

No	A549	BJ	BJLD	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT116	HCT116-p53	K562	K562-TAX	MRC-5	MRC5-LD	U2OS
11a	38,19	48,72	43,16	5,5	41,27	25,27	24,01	16,63	33,93	35,32	34,65	9,72
11b	30,51	37,65	39,23	12,15	27	>50	>50	>50	21,07	37,07	37	>50
11c	32,41	>50	ND	4,09	14,97	>50	>50	5,27	13,11	>50	>50	33,03
11d	15,14	25,04	23,88	3,81	11,2	17,47	17,35	9,6	11,23	30,01	24,31	7,36
11e	>50	>50	ND	4,13	23,16	>50	>50	4,6	23,29	>50	ND	>50

A549: adenocarcinoma de pulmón, MRC-5 y BJ: células no tumorales de fibroblastos humanos, MRC-5 LD y BJLD: fibroblastos de pulmón humano resistentes a la doxorrubicina, CCRF-CEM: leucemia linfoblástica T, K562: leucemia mieloide aguda con translocación bcr-abl, CCRF-CEM: sublínea celular de leucemia resistente a daunorrubicina, K562-TAX: sublínea celular de leucemia mieloide aguda resistente a paclitaxel, U2OS: línea celular de osteosarcoma, HCT116: línea celular tumoral colorrectal, HCT116p53-/-: línea celular tumoral colorrectal con mutación en el gen p53.

11a, c y e fueron en el rango de dos y cinco veces más potentes contra K562 que la línea celular resistente K562-TAX. Estos resultados indican que otros mecanismos, además de la glicoproteína P, que es común para ambas líneas celulares, son responsables de la resistencia.

A excepción del derivado 11d, el resto de los compuestos pueden considerarse inactivos frente al adenocarcinoma de pulmón humano A549 (CI₅₀ > 15 μM). La actividad citotóxica de todos los compuestos probados contra las líneas celulares de carcinoma de colon (HCT116 y HCT116p53-/-) fue similar, poco activos. Se observó un ligero aumento en la actividad citotóxica de los compuestos 11a y d frente a células cancerosas humanas de osteosarcoma (U2OS) (CI₅₀ 9,72 y 7,36 μM), respectivamente. Los compuestos 11a-e se pueden considerar como no tóxicos en las líneas celulares no cancerosas BJ, MRC-5, BJLD y MRC-5LD.

A partir de estos resultados, es obvio, con algunas excepciones, que el derivado 11d exhibió una citotoxicidad selectiva más pronunciada (en comparación con las células BJ y MRC-5) contra las células cancerosas humanas de HCT116 (cáncer colorrectal humano con p53 de tipo salvaje) y HCT116p53-/- (cáncer colorrectal humano con p53 eliminado), así como líneas celulares de leucemia (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 y K562-TAX), pulmón (A549) y células de osteosarcoma (U2OS). También se detectó una buena selectividad

en los compuestos 11c y 11e para células cancerosas leucémicas y colorrectales (con y sin delección de p53) (en comparación con MRC-5). Con respecto al compuesto 11a, exhibió una selectividad moderada (en comparación con las líneas celulares BJ y MRC-5) para las células A549; sin embargo, presentó buena selectividad (en comparación con las células BJ y MRC-5) para las células cancerosas derivadas de pulmón, carcinoma de colon, así como en células leucémicas y de osteosarcoma.

Como era de esperar, la citotoxicidad de los compuestos evaluados se observa significativamente afectada por el estado de oxidación del átomo de azufre unido a la posición C-4 de la quinolina y por la oxidación del nitrógeno quinolínico, como ha sido reportado previamente [49], y por el número y patrón de sustitución en que se encuentran los grupos metoxilos en el núcleo de la 1-indanona.

Análisis del ciclo y muerte celular

Por otro lado, queríamos averiguar si los compuestos 11a-e pueden detener el ciclo celular de las células cancerosas, como se reportó anteriormente para la cloroquina y análogos [49]- [54]. Con el fin de obtener una descripción más detallada de la actividad biológica de los derivados estudiados, realizamos un análisis del ciclo de las células CCRF-CEM más sensibles después de 24 h de incubación con los nuevos derivados de 7-cloro-(4-tioalquilquinolina) (Tabla 2).

Tabla 2. Citotoxicidad de los compuestos 11c-e en el ciclo celular en linfoblastos CCRF-CEM.

% población de células totales									
n.º	Conc. (μM)	Sub-G1 Apoptosis	G0/G1	S	G2/M	>G2/M	M ^a	ADN ^b Síntesis	ARN ^b Síntesis
11c	4,09	3,14	39,78	33,66	23,56	10,82	2,02	26,37	17,46
	20,5	10,63	29,48	42,88	27,64	12,99	6,08	2,53	16,67
11d	3,81	3,36	37,93	43,41	18,66	9,71	1,87	2,76	19,4
	19,1	7,59	27,73	39,33	32,94	10,56	8,29	24,01	24,95
11e	4,13	5,09	35,7	47,92	16,38	14,2	1,42	39,66	16,23
	20,7	5,83	49,76	30,92	19,32	9,11	2,12	15,47	20,85
Control	0	2,89	36,23	44,01	19,77	10,01	1,8	39,62	21,56

^a Mitosis Fosfo-Histona3 (Ser10).

^b Síntesis de ADN y ARN en linfoblastos CCRF-CEM (% de células positivas). Se usó análisis de citometría de flujo para cuantificar la distribución del ciclo celular y el porcentaje de células apoptóticas. La suma del porcentaje de G0/G1, S y G2/M es igual al 100%.

Se determinó el efecto de los compuestos en la distribución del ciclo celular para obtener información sobre el mecanismo de su actividad antiproliferativa. Como puede verse en la Tabla 2, una exposición de 24 h de células CCRF-CEM a concentraciones supresoras del crecimiento de derivados de 7-cloro-(4-tioalquilquinolina) (1 × CI₅₀ y 5 × CI₅₀ μM) resultó en una acumulación significativa de células en fase G2/M que se acompañó de un aumento de células con G0/G1 y una disminución del contenido de S, ADN y ARN. Todos los compuestos probados exhibieron un aumento dependiente de la dosis en la población de células mitóticas (pH3Ser10 positivas). Por ejemplo, en comparación con el control, el porcentaje de células en la fase G2/M aumentó mediante el tratamiento con 5 × CI₅₀ μM de compuestos durante 24 h (Tabla 2). Los compuestos también

indujeron distintos valores sub-G1, que representan la población de células apoptóticas y muertas. Como se muestra en la Tabla 2, hubo un marcado aumento en el sub-G1 comparado con el valor de 2,89 en las células no tratadas. La 5-bromo-2-desoxiuridina (BrDU) se incorpora al ADN recién sintetizado y, por lo tanto, el marcado de pulsos de 5-bromouridina (BrU) se usa comúnmente como marcador de proliferación. La baja incorporación de BrDU y BrU en el ADN o el ARN, respectivamente, de las células tratadas con todos los compuestos a 5 × CI₅₀ reflejó la inhibición de la síntesis de ADN y ARN, lo que indica cambios apoptóticos irreversibles. El porcentaje de células BrU negativas que incorporan 5-bromouridina es proporcional a la actividad transcripcional de las células CCRF-CEM.

Estos resultados sugirieron que estos compuestos podrían bloquear el ciclo celular e inducir la apoptosis y la muerte en las células CCRF-CEM de forma dependiente de la dosis *in vitro*.

Conclusiones

En este trabajo describimos un método conveniente para la síntesis de una mezcla de diastereoisómeros derivados de [(7-cloroquinolin-4-il)tio]alquil-1-indanones **11a-e** a través de la reacción de [(7-cloroquinolin-4-il)tio]alcohol, previa oxidación con el reactivo de Dess-Martin para obtener el aldehído respectivo, que fue acoplado con las 1-indanonas correspondientes usando LDA. Los compuestos fueron evaluados por su potencial acción como citotóxicos con efecto *in vitro* a concentraciones micromolares contra las células derivadas del carcinoma de pulmón y colorrectal. Los compuestos, con excepción de **11b**, muestran una buena selectividad sobre la proliferación de líneas celulares cancerosas con baja toxicidad para los fibroblastos MRC o BJ no malignos. Se observó una baja citotoxicidad frente a líneas celulares de cáncer multirresistentes (CEM-DNR, K562-TAX), lo que sugiere que son sustratos para transportadores farmacológicos. A concentraciones más altas ($5 \times \text{CI}_{50}$) de los compuestos **11c-e**, contra la línea celular de cáncer CCRF-CEM, observamos la acumulación de las células en la fase celular G0/G1, la inhibición de la síntesis de ADN y ARN y la inducción de la apoptosis. El mecanismo molecular de este último efecto requiere investigación adicional.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, así como al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Venezuela, proyectos 20220PGP65, 2023PGP99, a la Escuela de Medicina, Universidad de Especialidades Espíritu Santo (UEES), 2022-MED-001, y the Czech Ministry of Education, Youth and Sports (CZ-OPENSREEN-LM2018130, and EATRIS-CZ-LM2018133), por sus apoyos parciales al financiamiento de esta investigación.

Referencias

- [1] World Health Organization (WHO), 2002. DOI: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- [2] R. L. Siegel, K. D. Miller, N. S. Wagle, and A. Jemal, "Cancer statistics, 2023", *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 73, no. 1, pp. 17-48, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- [3] M. Xi, T. Chen, C. Wu, X. Gao, Y. Wu, X. Luo, K. Du, L. Yu, T. Cai, R. Shen, and H. Sunet, "CDK8 as a therapeutic target for cancers and recent developments in discovery of CDK8 inhibitors", *Eur. J. Med. Chem.*, no. 164, pp. 77-91, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.076>.
- [4] D. Hanahan and R. A. Weinberg, "Hallmarks of cancer: The next generation", *Cell*, vol. 144, no. 5, pp. 646-674, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
- [5] F. S. Liu, "Mechanisms of chemotherapeutic drug resistance in cancer therapy—a quick review", *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 48, no. 3, pp. 239-244, 2009. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1028-4559\(09\)60296-5](https://doi.org/10.1016/S1028-4559(09)60296-5).
- [6] J. Iqbal, B. A. Abbasi, T. Mahmood, S. Kanwal, B. Ali, S. A. Shah, and A. T. Khalil, "Plant-derived anticancer agents: a green anticancer approach", *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 7, no. 12, pp. 1129-1150, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.10.016>.
- [7] M. A. A. Al-Bari, "Chloroquine analogues in drug discovery: new directions of uses, mechanisms of actions and toxic manifestations from malaria to multifarious diseases", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, no. 6, pp. 1608-1621, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkv018>.
- [8] D. Plantone and T. Koudriavtseva, "Current and future use of chloroquine and hydroxychloroquine in infectious, immune, neoplastic, and neurological diseases: A mini-review", *Clin. Drug Invest.*, vol. 38, no. 8, pp. 653-671, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40261-018-0656-y>.
- [9] A. M. Shukla and A. W. Shukla, "Expanding horizons for clinical applications of chloroquine, hydroxychloroquine, and related structural analogues", *Drugs Context.*, vol. 8, no. 2019-9-1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.7573/dic.2019-9-1>.
- [10] C. Verbaanderd, H. Maes, M. B. Schaaf, V. P. Sukhatme, P. Pantziarka, V. Sukhatme, P. Agostinis, and G. Bouche, "Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)—chloroquine and hydroxychloroquine as anti-cancer agents", *Ecancermedicalscience*, vol. 11, no. 781, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2017.781>.
- [11] P. Samaras, M. Tusup, T. D. L. Nguyen-Kim, B. Seifert, H. Bachmann, R. von Moos, A. Knuth, and S. Pascolo, "Phase I study of a chloroquine-gemcitabine combination in patients with metastatic or unresectable pancreatic cancer", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 80, no. 5, pp. 1005-1012, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00280-017-3446-y>.
- [12] S. Fortin and G. Bérubé, "Advances in the development of hybrid anticancer drugs", *Expert Opin. Drug Discov.*, vol. 8, no. 8, pp. 1029-1047, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.798296>.
- [13] J. A. Marinho, D. S. Martins Guimaraes, N. Glanzmann, G. de Almeida-Pimentel, K. I. da Cost Nunes, H. M. Gualberto-Pereira, M. Navarro, F. de Pilla-Varotti, D. A. da Silva, and C. Abramo, "In vitro and in vivo antiplasmodial activity of novel quinoline derivative compounds by molecular hybridization", *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 215, 113271, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113271>.
- [14] R. Morphy and Z. Rankovic, "Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm", *J. Med. Chem.*, vol. 48, no. 21, pp. 6523-6543, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm058225d>.
- [15] F. W. Muregi and A. Ishih, "Next-generation antimalarial drugs: Hybrid molecules as a new strategy in drug design", *Drug Dev. Res.*, vol. 71, no. 1, pp. 20-32, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/ddr.20345>.
- [16] B. Meunier, "Hybrid molecules with a dual mode of action: Dream or reality?", *Acc. Chem. Res.*, vol. 41, no. 1, pp. 69-77, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar7000843>.
- [17] A. Pawełczyk, K. Sowa-Kasprzak, D. Olender, and L. Zaprutko, "Molecular consortia - various structural and synthetic concepts for more effective therapeutics synthesis", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 4, pp. 1104-1123, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19041104>.
- [18] H. M. Sampath, L. Herrmann, and S. B. Tsogoeva, "Structural hybridization as a facile approach to new drug candidates", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 30, no. 23, 127514, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127514>.
- [19] O. M. Soltan, M. F. Shoman, S. A. Abdel-Aziz, A. Narumi, H. Konno, and M. Abdel-Aziz, "Molecular hybrids: A five-year survey on structures of multiple targeted hybrids of protein kinase inhibitors for cancer therapy", *Eur. J. Med. Chem.*, no. 225, 113768, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113768>.
- [20] O. Afzal, S. Kumar, R. Haider, R. Ali, R. Kumar, M. Jaggi, and S. Bawa, "A review of the anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline", *Eur. J. Med. Chem.*, no. 97, pp. 871-910, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.044>.
- [21] R. Kaur and K. Kumar, "Synthetic and medicinal perspective of quinolines as antiviral agents", *Eur. J. Med. Chem.*, no. 215, 113220, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113220>.
- [22] B. S. Matada, R. Pattanashettar, and N. G. Yernale, "A comprehensive review on the biological interest of quinoline and its derivatives", *Bioorg. Med. Chem.*, no. 32, 115973, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115973>.
- [23] S. Mah, J. H. Park, H.-Y. Jung, K. Ahn, S. Choi, H. S. Tae, K. H. Jung, J. K. Rho, J. C. Lee, S.-S. Hong, and S. Hong, "Identification

- of 4-phenoxyquinoline based inhibitors for L1196M mutant of anaplastic lymphoma kinase by structure-based design", *J. Med. Chem.*, vol. 60, no. 22, pp. 9205-9221, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01039>.
- [24] J. R. Rodrigues, J. Charris, R. Ferrer, N. Gamboa, J. Ángel, B. Nitzsche, M. Hoepfner, M. Lein, K. Jung, and C. Abramjuk, "Effect of quinolinyl acrylate derivatives on prostate cancer in vitro and in vivo", *Invest. New Drugs*, vol. 30, no. 4, pp. 1426-1433, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10637-011-9716-3>.
- [25] J. A. Romero, M. E. Acosta, N. D. Gamboa, M. R. Mijares, J. B. De Sanctis, and J. E. Charris, "Optimization of antimalarial, and anticancer activities of (E)-methyl 2-(7-chloroquinolin-4-ylthio)-3-(4-hydroxyphenyl) acrylate", *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 26, no. 4, pp. 815-823, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.12.022>.
- [26] H. Ramírez, E. Fernández, J. Rodrigues, S. Mayora, G. Martínez, C. Celis, J. B. De Sanctis, M. Mijares, and J. Charris, "Synthesis and antimalarial and anticancer evaluation of 7-chloroquinoline-4-thiazoleacetic derivatives containing aryl hydrazide moieties", *Arch. Pharm.*, vol. 354, no. 77, e2100002, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/ardp.202100002>.
- [27] S. Chitra, N. Paul, S. Muthusubramanian, P. Manisankar, P. Yogeeswari, and D. Sriram, "Synthesis of 3-heteroarylthioquinoline derivatives and their in vitro antituberculosis and cytotoxicity studies", *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 46, no. 10, pp. 4897-4903, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.07.046>.
- [28] Y. H. Kim, J. M. Kauffman, W. O. Foye, "Synthesis and Antileukemic Activity of 2-(2-Methylthio-2-aminovinyl)-1-methylquinolinium Iodides", *J. Pharm. Sci.*, vol. 72, no. 11, pp. 1356-1358, 1983. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.2600721132>.
- [29] Z. Cai, W. Zhou, and L. Sun, "Synthesis and HMG CoA reductase inhibition of 4-thiophenylquinolines as potential hypocholesterolemic agents", *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 15, no. 24, pp. 7809-7829, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.08.044>.
- [30] E. S. Coimbra, L. M. Antinarelli, N. P. Silva, I. O. Souza, R. S. Meinel, M. N. Rocha, R. P. Soares, and A. D. da Silva, "Quinoline derivatives: Synthesis, leishmanicidal activity and involvement of mitochondrial oxidative stress as mechanism of action", *Chem. Biol. Interact.*, no. 260, pp. 50-57, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.10.017>.
- [31] E. Lukevics, E. Abele, P. Arsenyan, R. Abele, K. Rubina, I. Sheshtakova, I. Domracheva, and V. Vologdina, "Synthesis and cytotoxicity of silicon containing pyridine and quinoline sulfides", *Met. Based Drugs*, vol. 9, no. 1, 2, pp. 45-51, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/MBD.2002.45>.
- [32] W. Mól, M. Matyja, B. Filip, J. Wietrzyk, and S. Boryczka, "Synthesis and antiproliferative activity in vitro of novel (2-butynyl) thioquinolines", *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 16, no. 17, pp. 8136-8141, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.047>.
- [33] H. Sugimoto, Y. Iimura, Y. Yamanishi, and K. Yamatsu, "Synthesis and Structure-Activity Relationships of acetylcholinesterase inhibitors: 1-Benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-oxoindan-2-yl)methyl]piperidine hydrochloride and related compounds", *J. Med. Chem.*, vol. 38, no. 24, pp. 4821-4829, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm00024a009>.
- [34] H. O. Saxena, U. Faridi, S. Srivastava, J. K. Kumar, M. P. Darokar, S. Luqman, C. S. Chanotiya, V. Krishna, A. S. Negi, and S. P. S. Khanuja, "Gallic acid-based indanone derivatives as anticancer agents", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 18, no. 14, pp. 3914-3918, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.06.039>.
- [35] A. I. Syrchina and A. A. Semenov, "Natural indanones", *Chem. Nat. Compd.*, no. 18, pp. 1-11, 1982. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00581584>.
- [36] N. V. Kovganko, Z. N. Kashkan, and S. N. Krivenok, "Bioactive compounds of the flora of belarus. 4. pterosins a and b from *Pteridium aquilinum*", *Chem. Nat. Compd.*, no. 40, pp. 227-229, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:CONC.0000039129.46159.ce>.
- [37] X. Ge, G. Ye, P. Li, W.-J. Tang, J.-L. Gao, and W.-M. Zhao, "Cytotoxic Diterpenoids and Sesquiterpenoids from *Pteris multifida*", *J. Nat. Prod.*, vol. 71, no. 2, pp. 227-231, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/np0706421>.
- [38] H. Sheridan, N. Frankish, and R. Farrell, "Synthesis and antispasmodic activity of analogues of natural pterosins", *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 34, no. 11, pp. 953-966, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(99\)00113-0](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(99)00113-0).
- [39] J. C. Menezes, "Arylidene indanone scaffold: medicinal chemistry and structure-activity relationship view", *RSC Adv.*, no. 7, pp. 9357-9372, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/c6ra28613e>.
- [40] J. E. Gutiérrez, E. Fernández-Moreira, M. E. Acosta, H. Ramírez, and J. E. Charris, "Optimization of the synthesis, in silico ADME/Tox profiling studies, and evaluation of the antimalarial activity of (7-chloroquinolin-4-ylthio)alkylbenzoate derivatives", *J. Chem. Res.*, vol. 47, no. 3. DOI: <https://doi.org/10.1177/17475198231175326>.
- [41] P. A. Peixoto, R. Severin, C.-C. Tseng, and D. Y.-K. Chen, "Formal asymmetric synthesis of echinopine A and B", *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 50, no. 13, pp. 3013-3016, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201008000>.
- [42] Y. J. Kim, M. P. Bernstein, A. S. Galiano, F. E. Romesberg, P. G. Williard, D. J. Fuller, A. T. Harrison, and D. B. Collum, "On the structure and reactivity of Lithium Diisopropylamide (LDA) in hydrocarbon solutions. Formation of unsolvated ketone, ester, and carboxamide enolates", *J. Org. Chem.*, vol. 56, no. 14, pp. 4435-4439, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1021/jo00014a019>.
- [43] O. Provot, J. F. Berrien, H. Moskowitz, and J. Mayrargue, "Trifluoromethyl ketones chemistry: efficient access to silyl enol ethers or silyl carbins using lithium diisopropylamide", *J. Fluorine Chem.*, vol. 86, no. 2, pp. 185-186, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(97\)00098-5](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(97)00098-5).
- [44] Y. Yamamoto, Y. Yasuda, H. Oulyadi, J. Maddaluno, and K. Tomioka, "NMR studies of a ternary complex reagent of lithium ester enolate, chiral diether, and lithium diisopropylamide in an asymmetric Michael reaction", *Tetrahedron*, vol. 66, no. 13, pp. 2470-2473, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.01.072>.
- [45] M. Jurášek, P. Džubák, S. Rimpelová, D. Sedlák, P. Konečný, I. Frydrych, S. Gurská, M. Hajdúch, K. Bogdanová, M. Kolář, M. T. Müller, E. Kmoníčková, T. Ruml, J. Harmatha, and P. B. Drašar, "Trilobolide-steroid hybrids: Synthesis, cytotoxic and antimycobacterial activity", *Steroids*, no. 117, pp. 97-104, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.08.011>.
- [46] J. Řehulka, K. Vychodilová, P. Krejčí, S. Gurská, P. Hradil, M. Hajdúch, P. Džubák, and J. Hlaváč, "Fluorinated derivatives of 2-phenyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolinone as tubulin polymerization inhibitors", *Eur. J. Med. Chem.*, no. 192, pp. 112176, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112176>.
- [47] S. Rimpelová, T. Zimmermann, P. B. Drašar, B. Dolenský, J. Bejček, E. Kmoníčková, P. Cihlářová, S. Gurská, L. Kuklíková, M. Hajdúch, T. Ruml, L. Opletal, P. Džubák, and M. Jurášek, "Steroid glycosides hyrcanoside and deglucohyrcanoside: On isolation, structural identification, and anticancer activity", *Foods*, vol. 10, no. 1, p. 136, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10010136>.
- [48] P. Džubák, S. Gurská, K. Bogdanová, D. Uhríková, N. Kanjaková, S. Combet, T. Klunda, M. Kolář, M. Hajdúch, and M. Poláková, "Antimicrobial and cytotoxic activity of (thio)alkyl hexopyranosides, nonionic glycolipid mimetics", *Carbohydr. Res.*, no. 488, pp. 107905, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107905>.
- [49] J. E. Gutiérrez, E. Fernandez-Moreira, M. A. Rodríguez, M. R. Mijares, J. B. De Sanctis, S. Gurská, P. Džubák, M. Hajdúch, J. Bruno-Colmenarez, L. Rojas, D. Deffieux, L. Pouységu, S. Quideau, J. Charris, and H. Ramírez, "Novel 7-Chloro-(4-thioalkylquinoline) derivatives: Synthesis and antiproliferative activity through inducing apoptosis and DNA/RNA damage", *Pharmaceuticals*, no. 15, pp. 1234, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceuticals15121234>.

ph15101234.

- [50] K. Sasaki, N. H. Tsuno, E. Sunami, G. Tsurita, K. Kawai, Y. Okaji, T. Nishikawa, Y. Shuno, K. Hongo, M. Hiyoshi, M. Kaneko, J. Kitayama, K. Takahashi, and H. Nagawa, "Chloroquine potentiates the anti-cancer effect of 5-fluorouracil on colon cancer cells", *BMC Cancer*, no. 10, p. 370, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-370>.
- [51] H. Monma, Y. Iida, T. Moritani, T. Okimoto, R. Tanino, Y. Tajima, and M. Harada, "Chloroquine augments TRAIL-induced apoptosis and induces G2/M phase arrest in human pancreatic cancer cells", *PLoS ONE*, vol. 13, no. 3, e0193990, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193990>.
- [52] T. Hu, P. Li, Z. Luo, X. Chen, J. Zhang, C. Wang, P. Chen, and Z. Dong, "Chloroquine inhibits hepatocellular carcinoma cell growth in vitro and in vivo", *Oncol. Rep.*, vol. 35, no. 1, pp. 43-49, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2015.4380>.
- [53] L. Jia, J. Wang, T. Wu, J. Wu, J. Ling, and B. Cheng, "In vitro and in vivo antitumor effects of chloroquine on oral squamous cell carcinoma", *Mol. Med. Rep.*, no. 16, pp. 5779-5786, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7342>.
- [54] P. Jiang, Y. Zhao, W. Shi, X. Deng, G. Xie, Y. Mao, Z. Li, Y. Zheng, S. Yang, and Y. Wei, "Cell Growth Inhibition, G2/M Cell cycle arrest, and apoptosis induced by chloroquine in human breast cancer cell line Bcap-37", *Cell Physiol. Biochem.*, vol. 22, no. 5, 6, pp. 431-440, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1159/000185488>.

Citación del artículo:

J. E. Gutiérrez *et al.*, "Síntesis y actividad antiproliferativa de una mezcla de derivados de (+/-)7-cloro-(4-tioalquilquinolina). Inducción de apoptosis y daño sobre el ADN/ARN", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, no. 1, pp. 10-18, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n1.110787>