



Vol. 26, No 3, 4
Julio - Diciembre 2018

CIENTIFICA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

CIENCIA 26 (3,4), 89 - 94, 2018
Maracaibo, Venezuela

DOI: <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.5590947>

Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de un derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona

Yonathan de J. Parra¹, Rosa E. Ferrer^{2*} y Jaime Charris³

¹Escuela de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería en Geología, Minas, Petróleos y Ambiental, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

²Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

³Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

* rosaferrer28@gmail.com

Recibido: 05-10-18 Aceptado: 25-10-18

Resumen

El presente estudio describe la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana del 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**), el cual se diseñó y sintetizó aplicando una estrategia de hibridación molecular, considerando dos porciones farmacofóricas: 7-cloro-4-aminoquinolina y semicarbazona; ambas fracciones se han relacionado con la actividad antimicrobiana exhibida por una serie de derivados sintetizados. El compuesto **5** se caracterizó empleando estudios de RMN ¹H, RMN ¹³C y espectrometría de masas con ionización por electrospray (ESI-EM). La evaluación biológica demostró que el compuesto posee una actividad antimicrobiana contra la bacteria Gram (-) *Pseudomona aeruginosa*, comparable con las actividades correspondientes a la amikacina, ampicilina-sulbactam y la ofloxacina.

Palabras clave: semicarbazona, 7-cloro-4-aminoquinolina, actividad antimicrobiana, hibridación molecular.

Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a 7-chloro-4-aminoquinolinesemicarbazone derivative

Abstract

This study describes the synthesis, characterization and antimicrobial activity evaluation of 2-(1-{3-[(7-chloroquinolin-4-yl)amino]phenyl}ethylidene)hydrazinocarboxamide (**5**), which was designed and synthesized applying a molecular hybridization strategy, considering two pharmacophoric portions: 7-chloro-4-aminoquinoline and semicarbazone; both fractions have been related to antimicrobial activity exhibited by a series of derivatives synthesized. Compound **5** was characterized using ¹H NMR, ¹³C NMR and Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS) studies. Biological evaluation showed that compound **5** exhibited antimicrobial activity against bacteria Gram (-) *Pseudomona aeruginosa*, comparable with the activities corresponding to Amikacin, Ampicillin/Sulbactam and Ofloxacin.

Keywords: semicarbazone, 7-chloro-4-aminoquinoline, antimicrobial activity, molecular hybridization.

Introducción

La Química Medicinal posee como objetivo central la identificación, diseño, síntesis y desarrollo de nuevos compuestos con potencial uso terapéutico. Dentro de la gran variedad de compuestos orgánicos estudiados existe un grupo con un alto perfil farmacológico y aplicaciones clínicas como es el caso de las semicarbazonas.

Las semicarbazonas han sido motivo de interés en el área farmacéutica debido a sus propiedades, principalmente de tipo antimicrobiana (1-5). Sin embargo, también han mostrado actividad antichagásica (6), anticonvulsivante (7) y antitumoral (8). Estas propiedades se han adjudicado al grupo semicarbazona como farmacóforo fundamental y al hecho de que también pueden ser precursoras de otros compuestos con igual o distinta actividad biológica. En la actualidad las semicarbazonas han cobrado relevancia al ser consideradas ligandos en la síntesis de complejos de coordinación, los cuales son capaces de potenciar su actividad por algún efecto sinérgico con el metal (9,10).

Por otra parte, los derivados de quinolina también son conocidos por su potencial actividad antibacterial y antifúngica (11-14). Estudios como la síntesis de derivados de 7-cloro-4-aminoquinolinas (15,16) con prometedoras actividades antimicrobianas son el enfoque de este estudio, considerándose como otro farmacóforo de importancia en el diseño de compuestos con potencial actividad antimicrobiana.

La necesidad de progresar en el desarrollo de nuevas drogas antimicrobianas que permitan disminuir los eventos de resistencia y aumentar la eficacia, ha llevado a la generación de diversas propuestas metodológicas de diseño de drogas. Una de estas estrategias es la hibridación molecular, basada en la combinación de restos farmacofóricos de diferentes sustancias bioactivas para producir un nuevo compuesto híbrido con afinidad y eficacia mejoradas, en comparación con los compuestos originales (17).

En tal sentido, resulta interesante el diseño y síntesis de compuestos que incluyan los fragmentos farmacofóricos 7-cloro-4-aminoquinolínico y semicarbazona (hidracinacarboxamida), con la finalidad de evaluar su potencial actividad antimicrobiana. En este artículo se presentan la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana del 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**), compuesto novel que posee en su estructura química ambas porciones farmacofóricas (ver figura 1).

Materiales y métodos

Todos los reactivos y solventes empleados fueron de grado analítico. Los solventes se sometieron a previos procesos de secado mediante métodos estándares. La pureza de los compuestos sintetizados se evaluó por cromatografía de capa fina (CCF o TLC), usando placas de Gel de Sílice 60 con indicador fluorescente UV₂₅₄, una lámpara ultravioleta y un sistema de solvente adecuado. Todos los puntos de fusión se midieron empleando un fusiómetro digital Stuart Scientific modelo SMP3 (Sigma-Aldrich) y no fueron corregidos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se tomaron empleando dos espectrómetros, uno de marca JEOL ECLIPSE y otro de marca Bruker AVANCE II, de 270 MHz y 300 MHz para RMN ¹H y con potencia de 67,9 MHz y 75,47 MHz para RMN ¹³C, respectivamente. Se utilizó DMSO-d₆ como solvente. El desplazamiento químico (δ) se reportó en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz, empleando como referencia trazas de TMS, como estándar interno.

La espectrometría de masas por ionización electrospray (ESI-EM), se empleó para identificar el ión molecular precursor del compuesto novel **5**, usando un espectrómetro de masas de la serie TSQ Quantum con triple cuadrupolo (marca Thermo Scientific) acoplado a un sistema de cromatografía de líquidos (CL), bajo las siguientes condiciones de funcionamiento: voltaje de spray, 3,5-5kV; temperatura del capilar, 200-350°C; gas envolvente (N₂), 1,9-20 μ l/min. La muestra se solubilizó en DMSO a una concentración de 1 mM.

Los bioensayos sobre la actividad antimicrobiana se realizaron en el Departamento de Biología Celular de la Universidad Simón Bolívar, Caracas-Venezuela.

Procedimiento para la obtención del derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5): La obtención del compuesto novel 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**) se realizó en dos pasos, iniciando con la síntesis del intermediario 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (**3**), mediante un procedimiento reportado previamente (18). Seguidamente, el intermediario **3** se sometió a una reacción de adición nucleofílica para obtener el derivado **5**, según el esquema mostrado en la figura 1.

Síntesis de 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (3): En un balón de reacción de tres bocas, provisto de un sistema de agitación y calentamiento, se preparó una mezcla de los reactivos en una relación molar 1:1, disolviendo 0,5 g (2,5 mmol) de 4,7-dicloro-quinolina (**1**) en etanol seco (25 mL) para posteriormente agregar 0,37 g (2,75 mmol) de la 3-aminoacetofenona (**2**), sometiendo la mezcla a calentamiento en reflujo

(80-85°C) durante 9 horas, manteniendo agitación constante y monitoreando el transcurso de la reacción por TLC. El sólido obtenido se filtró, se lavó con etanol y éter dietílico y se recrystalizó a partir de una mezcla de etanol-metanol (2:1).

Síntesis de 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5): En un balón de reacción de tres bocas, provisto de un sistema de agitación y calentamiento, se preparó una mezcla de los reactivos en una relación molar 1:1, disolviendo 0,42 g (1,42 mmol) de la 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (**3**) en metanol seco (20 mL) hasta obtener una solución transparente. Posteriormente, se agregó 0,158 g (1,42 mmol) de clorhidrato de semicarbazida (**4**) y 0,116 g (1,41 mmol) de acetato de sodio, sometiendo la mezcla a calentamiento en reflujo (65-70°C), manteniendo el pH entre 4,0-5,0; bajo agitación constante y monitoreando el transcurso de la reacción por TLC. El sólido obtenido se filtró, se lavó con metanol por triplicado, se recrystalizó a partir de una mezcla de DMF-metanol (1:5) y finalmente se volvió a lavar con éter dietílico.

Actividad antimicrobiana

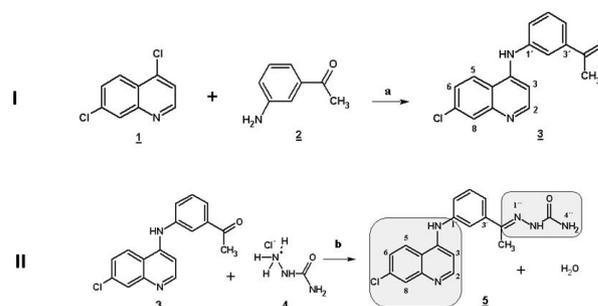
Los bioensayos se realizaron utilizando el método de difusión sobre placas de agar (19). Se preparó una suspensión de cada compuesto en la mezcla de solventes H₂O/DMSO/EtOH/Acetona 40:40:10:10 (C= 2-3 mg/mL, 5µl). Las referidas suspensiones se colocaron en discos de papel absorbente (Ø = 5 mm). La actividad biológica se evaluó contra los microorganismos Gram (+): *Staphylococcus aureus* (American Type Culture Collection [ATCC] 25923) y *Bacillus cereus* (ATCC 14579), los microorganismos Gram (-): *Escherichia coli* (ATCC 35218) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Se evaluó la actividad antimicótica utilizando la levadura *Candida tropicalis* MLDM 345611. *P. aeruginosa*, *B. cereus* y *C. tropicalis* fueron incubados a 30 °C, mientras que *E. coli* y *S. aureus* fueron incubados a 37 °C.

Como controles positivos se utilizaron los antibióticos comerciales: Amikacina (AN), Ampicilina-Sulbactam (AS), Ofloxacina (O), y Tilmicosin (TIL) (BBL-Sensi-Disc); como control negativo se empleó la mezcla de solventes (S) utilizada para

solubilizar las muestras. Los cultivos microbianos (0,1 mL) crecidos en placas LB preparado en el laboratorio (20), y ajustados en solución salina (0,85 %v/v) a la concentración correspondiente al Standard de McFarland N° 0,5, fueron sembrados en superficie en agar Mueller-Hinton (Merck 1.05437). En el caso de *Candida tropicalis* se utilizó una placa de YPD para la evaluación, ya que las levaduras crecen mejor en este medio. Sobre el césped microbiano se colocaron los discos de papel de filtro con las diferentes muestras y los controles.

Resultados y discusión

El derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5) se sintetizó a través de dos pasos, como se muestra en la figura 1.



- a) Reflujo en EtOH seco a 80-85°C por 9h
b) Reflujo en MeOH seco a 65-70°C / acetato de sodio / pH 4-5

Figura 1. Esquema de Síntesis de 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5)

El intermediario quinolinacetofenona (**3**) se sintetizó a partir de la reacción entre la 4,7-dicloroquinolina (**1**) y la 3-aminoacetofenona (**2**), a través de un mecanismo de sustitución nucleofílica aromática (SNAr). En esta reacción se controlaron variables como la temperatura y tiempo de reacción, a fin de obtener los mejores rendimientos. A continuación se presentan las propiedades físicas y características espectrales del intermediario 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (**3**), las cuales se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades físicas y características espectrales del intermediario 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (3)

Estado Físico	Punto de fusión
Sólido amarillo pálido	294 °C (Lit. [21] p.f. 250 °C).
RMN ¹H (270MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (multiplicidad, integral, asignación)]	
2.62 (s, 3H, CH ₃); 6.87 (d, 1H, H ₃ , J _{2,3} : 6.9 Hz); 7.75 (m, 2H, H _{4',6'}); 7.90 (dd, 1H, H _{6'} , J _{5,6} : 9.2 Hz, J _{6,8} : 1.97 Hz); 8.01 (t, 1H, H ₅ , J: 7.4 Hz); 8.04 (s, 1H, H ₂); 8.21 (d, 1H, H ₈ , J _{6,8} : 2.2 Hz); 8.55 (d, 1H, H ₂ , J _{2,3} : 6.9 Hz); 8.95 (d, 1H, H ₅ , J _{5,6} : 9.2 Hz); 11.39 (s ancho, 1H, NH)	
RMN ¹³C (75,47MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (asignación)]	
27.3 (CH ₃); 102.8; 119.0; 121.9; 124.3; 125.1; 125.8; 127.2; 127.9; 130.4; 134.8; 138.7; 141.4; 148.4; 149.8; 152.2 (C-aromáticos); 198.2 (C=O).	

En un segundo paso el derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5) se obtuvo a través de una reacción de adición nucleofílica entre el clorhidrato de semicarbazida (4) con el intermediario quinolinacetofenona (3). Debido a que el potencial nucleófilo semicarbazida se encuentra bajo la forma de clorhidrato, se agregó acetato de sodio en presencia del compuesto carbonílico para liberar el reactivo nucleofílico, ajustando el medio de la reacción a un pH de 4,0-5,0; lo cual se requiere para protonar el compuesto carbonílico sin afectar apreciablemente la concentración de la

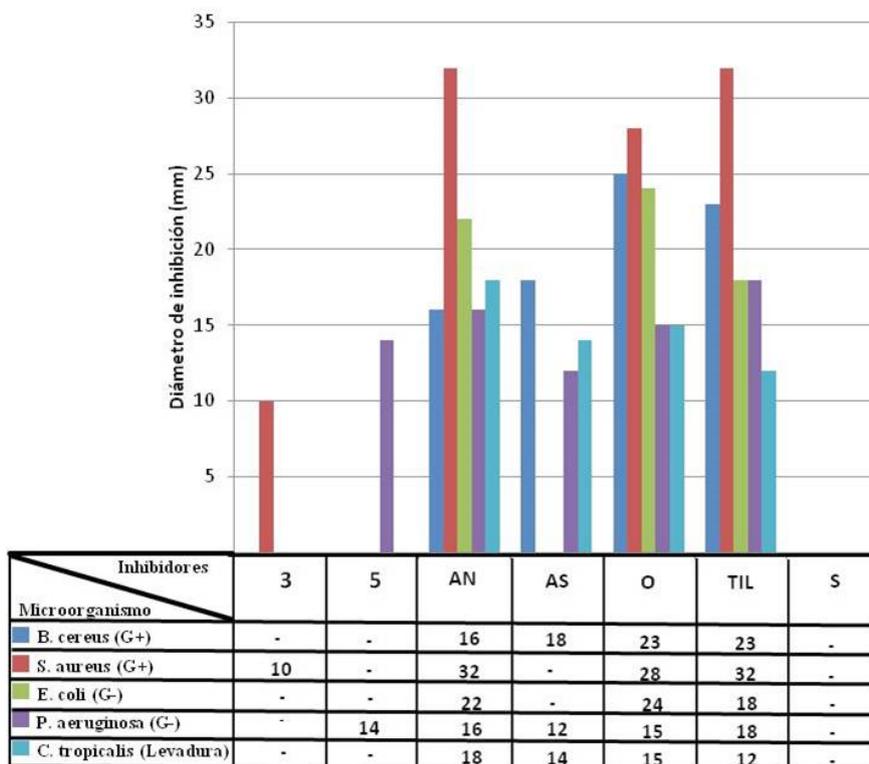
semicarbazida libre. La reacción se controló modificando variables como temperatura y tiempo de reacción, encontrándose que las mejores condiciones de reacción son aquellas donde se emplea una relación estequiométrica electrófilo / nucleófilo de 1:1, a una temperatura entre 65-70°C y a un tiempo no superior de 2 horas para completar la reacción. A continuación se presentan las propiedades físicas y características espectrales del compuesto final 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5), las cuales se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Propiedades físicas y características espectrales del derivado 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5)

Estado Físico	Punto de fusión
Sólido fino amarillo pálido	250 °C
RMN ¹H (270MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (multiplicidad, integral, asignación)]	
2.22 (s, 3H, CH ₃); 6.42 (s ancho, 2H, NH ₂); 6.79 (d, 1H, H ₃ , J _{2,3} : 7.04 Hz); 7.44 (d, 1H, H _{4'} , J _{4',5'} : 9.0 Hz); 7.54 (t, 1H, H _{5'} , J: 9.0 Hz); 7.80 (dd, 1H, H _{6'}); 7.83 (dd, 1H, H _{6'}); 7.99 (t, 1H, H _{2'} , J: 2.7 Hz); 8.22 (d, 1H, H ₈ , J _{6,8} : 2.06 Hz); 8.47 (d, 1H, H ₂ , J _{2,3} : 7.06 Hz); 8.94 (d, 1H, H ₅ , J _{5,6} : 9.16 Hz); 9.36 (s, 1H, N-NH-CO); 11.25 (s ancho, 1H, Ar-NH-Ar).	
RMN ¹³C (75,47MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (asignación)]	
13.1 (CH ₃); 100.3; 115.8; 119.0; 122.6; 124.8; 124.9; 126.1; 127.0; 129.5; 137.0; 138.1; 139.0; 140.0; 142.9; 143.1 (C-aromáticos); 154.8 (C=N); 156.8 (C=O)	
Espectro de Masas (ESI-MS), [Ion: m/z]	
[M+H] ⁺ = C ₁₈ H ₁₆ ClN ₅ O + H: 354.21 (ión molecular precursor)	

Cabe destacar que la purificación de los compuestos se realizó con dificultades debido a las bajas solubilidades en la mayoría de los solventes orgánicos comunes.

En relación a la actividad antimicrobiana, los resultados obtenidos de los bioensayos del intermediario quinolinacetofenona (3) y del derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5), se muestran en la figura 2.



**Figura 2. Actividad microbiana de los compuestos evaluados 3 y 5 (C = 2-5 mg/mL).
Controles: Amikacina (AN, 30 µg), Ampicilina-Sulbactam (AS, 20 µg), Ofloxacina (O, 5 µg),
Tilmicosin (TIL, 15 µg) y Mezcla de solventes (S). (-) = No hay inhibición.**

A partir de los resultados obtenidos, se corroboró que ninguno de los microorganismos Gram (+) y Gram (-) mostraron sensibilidad frente a la mezcla de solventes. Por otra parte, los antibióticos empleados demostraron tener actividad biológica específica contra los microorganismos empleados, inclusive contra *Candida tropicalis*.

El intermediario quinolinacetofenona (**3**) solo fue activo contra *Staphylococcus aureus*, una bacteria Gram (+); tal como se ha reportado en algunos estudios con derivados fenilactofenonas (22) y alquilacetofenonas (23). Por otra parte, el derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (**5**), mostró ser activo solo contra *Pseudomonas aeruginosa*, presentando en este estudio una actividad comparable con las correspondientes a la amikacina, ampicilina-sulbactam y la ofloxacina. La *Pseudomonas aeruginosa*, es una bacteria Gram (-) que causa infecciones con una alta tasa de mortalidad y resulta sumamente resistente a una gran cantidad de antibióticos comerciales (24,25), de allí la importancia de esta actividad presentada por el compuesto **5**, el cual puede ser un candidato para ser evaluado como posible ligando en síntesis de complejos, los cuales pudieran incrementar la potencia de la actividad antimicrobiana por algún efecto sinérgico con el metal empleado.

Conclusiones

Se sintetizó el 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il) amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**), compuesto cuya estructura presenta dos porciones farmacofóricas relacionadas con actividad antimicrobiana: la 7-cloro-aminoquinolina y la semicarbazona, bajo una estrategia de diseño basada en la hibridación molecular. El compuesto sintetizado en este estudio mostró una actividad antibacterial contra la bacteria Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*, presentando una actividad comparable con las correspondientes a la amikacina, ampicilina-sulbactam y la ofloxacina. Este resultado permite proponer al compuesto **5** como un posible ligando para la síntesis de complejos con la finalidad de evaluar una posible sinergia con el metal central que pudiera potenciar la actividad antibacterial.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por CONDES-LUZ a través del proyecto de investigación subvencionado CC-0594-10.

Referencias bibliográficas

1. BERALDO H. *Quim Nova* 27(3): 461-471. 2004.
2. IBRAHIM MN., AL-DIFAR HA. *Der Chemica Sinica* 2(1): 171-173. 2011.
3. VIJAYA S., RAJITHA B. *Med Chem Res* 21: 85-90. 2012.
4. AHSAN MJ., AMIR M., BAKHT MA., SAMY JG., HASAN MZ., NOMANI MS. *Arab J Chem* 9(S1): S861-S866. 2016.
5. SINGH V., MISHRA A., KHALID M., SINGH S. *J Pharm Chem Biol Sci* 4: 350-358. 2016.
6. SALES PA., MOLINA I., FONSECA SM., SÁNCHEZ-MONTALVÁ A., SALVADOR F., CORRÊA-OLIVEIRA R., CARNEIRO CM. *Am J Trop Med Hyg* 97(5): 1289-1303. 2017.
7. PANDEYA SN. *Acta Pharm* 62(3): 263-286. 2012.
8. LIU Z., WU S., WANG Y., LI R., WANG J., WANG L., ZHAO Y., GONG P. *Eur J Med Chem* 87: 782-793. 2014.
9. SHAAABANI B., KHANDAR AA., MAHMOUDI F., MAESTRO MA., BALULA SS., CUNHA-SILVA L. *Polyhedron* 57: 118-126. 2013.
10. SHAAABANI B., KHANDAR AA., DUSEK M., POJAROVA M., MAHMOUDI F. *Inorg Chim Acta* 394: 563-568. 2013.
11. EL-GAMAL KMA., SHERBINY FF., EL-MORSI AM., EL KHAIR HEA., EISSA IH., EL SEBAEI MM. *Pharm Pharmacol Int J* 2(5):165-177. 2015.
12. EL-GAMAL KM., HAGRS MS., ABULKHAIR HS. *Bull Fac Pharm Cairo Univ* 54(2): 263-273. 2016.
13. DESAI NC., PATEL BY., DAVE BP. *Med Chem Res* 26: 109-119. 2017.
14. ABOELNAGA A., EL-SAYED TH. *Green Chem Lett Rev* 11(3): 254-263. 2018.
15. RUDRAPAL M., CHETIA D. *Int. J Chemtech Res* 2(3): 1606-1611. 2010.
16. BISPO M., LIMA C., CARDOSO L., CANDÉA A., BEZERRA F., LOURENÇO M., HENRIQUES M., ALENCASTRO RB., KAISER CR., SOUZA M., ALBUQUERQUE MG. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland) 10(2): 52-67. 2017.
17. VIEGAS-JUNIOR C., DANUELLO A., DA SILVA-BOLZANI V., BARREIRO EJ., MANSSOUR-FRAGA CA. *Curr Med Chem* 14(17):1829-1852. 2007.
18. FERRER R., LOBO G., GAMBOAN., RODRIGUES J., ABRAMJUK C., JUNG K., LEIN M., CHARRIS J. *Sci Pharm* 77: 725-741. 2009.
19. JANSSEN AM, SCHEFFER JJ, BAERHEIM, A. 1987. *Planta Med* 53(5):395-398. 1987.
20. SAMBROOK J., FRITSCH EF., MANIATIS T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York (USA). Appendix A, pp A.1. 1989.
21. CHAUHAN P., PRATAP R., SHARMA S. *Indian J Chem* 24B: 1154-1157. 1985.
22. GOTO H., KUMADAY., ASHIDA H., YOSHIDA K. *Biosci Biotech Bioch* 73(1): 124-128. 2009.
23. SANTANDER J., OTTO C., LOWRY D., CUELLAR M., MELLADO M., SALAS C., ROTHHAMMER F., ECHIBURU-CHAU C. *Microbiol Res J* 5(2): 94-106. 2014.
24. KALLEN A., HIDRON A., PATEL J., SRINIVASAN A. *Infect Control Hosp Epidemiol* 31(5): 528-531. 2010.
25. KEEN EF., ROBINSON BJ., HOSPENTHAL DR., ALDOUS WK., WOLF SE., CHUNG KK., MURRAY CK. *Burns* 36: 819-825. 2010.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

CIENCIA

Vol.26 N°3, 4

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en diciembre de 2018, por el **Fondo Editorial Serbiluz**, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve