



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Síntesis de híbridos cumarina-chalcona y
evaluación de la actividad antiparasitaria
*in vitro***

**Synthesis of coumarin-chalcone hybrids
and evaluation of antiparasitic activity *in
vitro***

Sebastián Valencia Cossio

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, - Área curricular Ciencias Naturales,

Escuela de Química

Medellín, Colombia

2023

Síntesis de híbridos cumarina-chalcona y evaluación de la actividad antiparasitaria *in vitro*

Sebastián Valencia Cossio

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Ciencias Química

Director (a):

Dr. Diego Luis Durango Restrepo

Nombre Profesor

Codirector (a):

Dr. Jesús Humberto Gil González

Nombre Profesor

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Escuela de Química
Medellín, Colombia

2023

Dedicación.

Crece bajo los postulados de familia, de amor y respeto. Los cuales se convierten en principios de vida, en comportamientos imprescindibles para las buenas relaciones humanas, para existir de manera digna, con la predisposición siempre presente al goce de cada día. Son inexorables mi padre y mi madre, artífices de mis más profundas y sinceras convicciones. A ellos desde su presencia material o intangible, les dedico todos mis logros y mis esfuerzos. En todas mis acciones, sus principios y su memoria están presentes.

Agradecimientos

Deseo agradecer a todas las personas que de una u otra manera se sintonizaron, congeniaron y se sumaron a este proyecto o a esta etapa de formación. Los cuales enviaron buenas energías, dieron una palabra de apoyo, ofrecieron colaboración, brindaron conocimiento, tuvieron paciencia, solucionaron dudas, etc. Este resultado es de todos.

Un sincero agradecimiento a los artífices de este proyecto, al profesor Jesús Gil y al profesor Diego Durango, que con su buena vibra, me guiaron; de cada uno me llevo muchos aprendizajes significativos.

Al igual el agradecimiento extensivo a todos los compañeros del laboratorio de separaciones químicas con los que compartí y aprendí en esta etapa, a Diego Aristizabal, Laura Chiquiza, Karen Gomez, Sofia Medina, Simón Henao, Elkin Díaz.

Gracias a los laboratorios de Química Orgánica de Productos Naturales y al PECET de la Universidad de Antioquia, al profesor Winston Quiñones, el estudiante Samuel Vizcaíno y la profesora Sara Robledo.

Al laboratorio de citogenética de la Universidad Nacional, siempre dispuestos a ayudar y a brindar conocimientos, con los cuales se ha formado un buen equipo de trabajo, Juan López, Alejandra, Andrea, Mayerly, Laura.

Gracias a la Universidad Nacional de Colombia, quien proporcionó los recursos para esta investigación.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

SEBASTIAN VALENCIA COSSIO

Agosto 01 del 2023

Resumen general

Las enfermedades protozoarias causadas por *Trypanosoma cruzii* y *Leishmania panamensis*, son de amplio interés debido a los altos índices de contagios y de muertes que generan alrededor del mundo, prevaleciendo en América latina, Asia y África. Por lo tanto, es imperioso buscar nuevos compuestos como alternativa terapéutica que sirvan como nuevas estrategias eficientes, de fácil acceso, baja resistencia y pocos efectos secundarios en el tratamiento de infecciones protozoarias. Las cumarinas y las chalconas son metabolitos secundarios producidos por las plantas, los cuales han demostrado poseer una gran variedad de actividades farmacológicas. Se ha encontrado que poseen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antitrombóticas, anticancerígenas, antiAlzheimer, antidiabéticas y antivirales etc. Igualmente han demostrado poseer actividad antiprotozoaria, lo cual genera un posicionamiento importante de estas moléculas en la lucha contra estos parásitos. Las cumarinas y chalconas son dos clases importantes de compuestos bioactivos, que han sido ampliamente estudiados en el área de la química medicinal. Estos compuestos se pueden obtener en el laboratorio por medio de síntesis química y han evidenciado de manera individual o mediante la formación de híbridos, que poseen potencial *in vitro* contra algunos protozoos. La formación de híbridos entre cumarinas y chalconas se podría aducir como una posible alternativa farmacológica en el tratamiento de infecciones parasitarias.

La síntesis de híbridos entre estos dos compuestos se realizó haciendo uso de manera sucesiva de las reacciones de Knoevenagel y Claisen-Schmidt, respectivamente, para su posterior análisis *in vitro* de citotoxicidad en células U937 y de actividad en amastigotes de *Trypanosoma cruzii* y promastigotes de *Leishmania braziliensis*. Los compuestos se caracterizaron por métodos espectroscópicos modernos (IR, RMN). Basados en las propiedades farmacológicas de los híbridos, se realizó un análisis cualitativo de estructura-actividad y de parámetros farmacológicos. La mayoría de los híbridos poseen actividad antiparasitaria contra *T. cruzi* y *L. braziliensis*, y una baja toxicidad en la línea celular U937. Las sustituciones de carácter O-alquilo y OH- favorecen en buena medida la actividad inhibitoria. La gran mayoría de los híbridos poseen un perfil farmacológico adecuado; el híbrido H₂₅ exhibió resultados similares al Benznidazol, lo cual lo destaca como un compuesto con potencial para el desarrollo farmacológico.

Palabras clave: *T. cruzi*, *L. braziliensis*, híbridos, cumarinas, chalconas, actividad biológica

Abstract

Protozoan diseases caused by *Trypanosoma cruzii* and *Leishmania panamensis* are of broad interest due to the high rates of infections and deaths they generate around the world, prevailing in Latin America, Asia and Africa. Therefore, it is imperative to search for new compounds as a therapeutic alternative that serve as new efficient strategies, easy access, low resistance and few side effects in the treatment of protozoan infections. Coumarins and chalcones are secondary metabolites produced by plants, which have been shown to have a wide variety of pharmacological activities. It has been found that they have anti-inflammatory, antibacterial, antithrombotic, anticancer, antiAlzheimer's, antidiabetic and antiviral properties, etc. They have also been shown to have antiprotozoal activity, which generates an important position for these molecules in the fight against these parasites. Coumarins and chalcones are two important classes of bioactive compounds, which have been widely studied in the area of medicinal chemistry. These compounds can be obtained in the laboratory through chemical synthesis and have shown, individually or through the formation of hybrids, that they have in vitro potential against some protozoa. The formation of hybrids between coumarins and chalcones could be argued as a possible pharmacological alternative in the treatment of parasitic infections.

The synthesis of hybrids between these two compounds was carried out successively using the Knoevenagel and Claisen-Schmidt reactions, respectively, for subsequent in vitro analysis of cytotoxicity in U937 cells and activity in *Trypanosoma cruzii* amastigotes and *Leishmania promastigotes. braziliensis*. The compounds were characterized by modern spectroscopic methods (IR, NMR). Based on the pharmacological properties of the hybrids, a qualitative analysis of structure-activity and pharmacological parameters was carried out. Most of the hybrids have antiparasitic activity against *T. cruzi* and *L. braziliensis*, and low toxicity in the U937 cell line. Substitutions of O-alkyl and OH- character greatly favor the inhibitory activity. The vast majority of hybrids have an adequate pharmacological profile; Hybrid H25 exhibited similar results to Benznidazole, which highlights it as a compound with potential for pharmacological development.

Keywords: *T. cruzi*, *L. braziliensis*, hybrids, coumarins, chalcones, biological activity

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN	15
2. MARCO TEORICO	18
2.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS	18
2.1.1. LEISHMANIASIS	18
2.1.1.1 Transmisión	19
2.1.1.2 Diagnóstico y tratamiento.....	20
2.1.1.2.1 Leishmaniasis cutánea	21
2.1.1.2.2 Leishmaniasis mucosa.....	22
2.1.1.2.3 Leishmaniasis visceral	22
2.1.2 TRIPANOSOMIASIS	23
2.1.2.1 Transmisión	24
2.1.2.2 Diagnóstico y tratamiento.....	24
2.2 ASPECTOS QUÍMICOS	26
2.2.1 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS.....	26
2.2.1.1 Cumarinas	27
2.2.1.2 Chalconas.....	31
2.2.1.3 Híbridos	36
2.2.1.3.1 Híbridos enlazados con espaciadores	37
2.2.1.3.1.1 Híbridos no escindibles	37
2.2.1.3.1.2 Híbridos escindibles	37
2.2.1.3.2 Híbridos fusionados	38
2.2.1.3.3 Híbridos fusionados o superpuestos	38
2.2.1.4 Híbridos con actividad antiparasitaria.....	39
2.2.1.3.4.1 Híbridos quinolina-chalcona.....	40
2.2.1.3.4.2 Híbrido cumarina-isatina	41
2.2.1.3.4.3 Híbridos aminoquinolina-chalcona	42
2.2.1.3.4.4 Híbrido triazol-chalcona	43
2.2.1.3.4.5 Híbridos de cumarina-triazolotiadiazina	44
2.2.1.3.4.6 Híbridos de cumarina-Indolil	44
2.2.1.3.4.7 Híbrido cumarina-chalcona	45

2.2.1.3.4.7 Síntesis de híbridos cumarina-chalcona.....	46
2.2.2 DETERMINACION DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.....	49
4.2.4.1 Descriptores moleculares.....	49
4.2.4.2 Parámetros Farmacocinéticos.....	49
3. HIPÓTESIS.....	51
4. OBJETIVOS.....	51
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	52
5.1 Materiales.....	52
5.2 Equipos analíticos.....	52
5.3 Metodología de síntesis.....	53
5.3.1 Síntesis de 3-acetil-7-dietilamino-2H-cromen-2-ona (H ₁₀) y 3-acetil-7-metoxi-2H-cromen-2-ona (H ₂₀).....	53
5.3.2 Síntesis de Híbridos (H ₁₁ -H ₁₁₀) y (H ₂₁ -H ₂₆).....	54
5.4 Metodología de actividades biológicas.....	61
5.4.1. Citotoxicidad.....	61
5.4.2 Actividad in vitro contra T. cruzi.....	61
5.4.3 Actividad in vitro contra L. braziliensis.....	62
5.5 Metodología de parámetros farmacocinéticos.....	63
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
5.4.1. Síntesis de los híbridos cumarina-chalcona.....	64
5.4.2. Actividad biológica.....	70
5.4.2.1. Actividad citotóxica.....	70
5.4.2.2. Actividad antitripanosomal.....	72
5.4.2.3. Actividad antileishmanial.....	78
5.4.3. Análisis de parámetros farmacocinéticos.....	84
7. CONCLUSIÓN.....	87
8. PERSPECTIVAS.....	88
9. APORTES Y PRODUCCIÓN DERIVADA.....	89
10. REFERENCIAS.....	91
11. ANEXOS.....	108

Lista de figuras

Pág.

Figura 1. Ulceras en áreas expuestas, como la cara o las extremidades, causadas por Leishmaniasis.....	19
Figura 2. Ciclo de vida de Leishmania spp.	20
Figura 3. Estructura química de estibogluconato de sodio y antimoniato de meglumina. 21	
Figura 4. Estructura química de anfotericina B.	22
Figura 5. Ciclo de vida de Trypanosoma.....	24
Figura 6. Estructura química de Benznidazol y Nifurtimox.	26
Figura 7. Estructura química de la cumarina.	27
Figura 8. Estructura química de la chalcona.	32
Figura 9. Esquema y ejemplo de híbrido no escindibles.	37
Figura 10. Esquema y ejemplo de híbrido escindibles.	38
Figura 11. Esquema y ejemplo de híbrido fusionados.....	38
Figura 12. Esquema y ejemplo de híbrido fusionados o superpuestos.....	39
Figura 13. Estructura química del híbrido (H) cumarina-chalcona.....	45
Figura 14. Esquema simplificado de la reacción de Knoevenagel.....	47
Figura 15. Esquema simplificado de la reacción Claisen-Schmidt.....	47
Figura 16. Secuencia de etapas para la obtención y caracterización de híbridos cumarina-chalcona.	53
Figura 17. Reacción de Knoevenagel para la obtención de 3-acetil-2H-cromen-2-ona sustituidas.	54
Figura 18. Reacción Claisen-Schmidt para la obtención de híbridos.	55
Figura 19. Híbrido y sustituciones.	55

Figura 20. Estructura del compuesto 3-acetil-7-dietilamino cumarina (H ₁₀).	66
Figura 21. Espectro IR del compuesto H ₁₀	66
Figura 22. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₀	67
Figura 23. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₀	67
Figura 24. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-cinamoil-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona (H ₁₁)	68
Figura 25. Espectro IR del compuesto H ₁₁	69
Figura 26. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₁	69
Figura 27. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₁	70
Figura 28. Estructura base de híbrido cumarina-chalcona para obtener buena actividad antiparasitaria.	78

Anexos

Pág.

Figura 29. Estructura del compuesto 3-acetil-7-metoxi cumarina (H ₂₀)	83
Figura 30. Espectro IR del compuesto H ₂₀	84
Figura 31. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₂₀	84
Figura 32. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₂₀	85
Figura 33. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-(dietilamino)-3-[4-(metoxifenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (H ₁₂)	88
Figura 34. Espectro IR del compuesto H ₁₂	89
Figura 35. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₂	89
Figura 36. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₂	90
Figura 37. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-(dietilamino)-3-[3- <i>m</i> -tolil]acrilóil]-2H-cromen-2-ona (H ₁₃)	90
Figura 38. Espectro IR del compuesto H ₁₃	91
Figura 39. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₃	91
Figura 40. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₃	92
Figura 41. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-cinamoil-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona (H ₁₄)	92
Figura 42. Espectro IR del compuesto H ₁₄	93

Figura 43. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₄	93
Figura 44. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₄	94
Figura 45. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-[3-(3-bromofenil)acrilóil]-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona (H ₁₅).....	94
Figura 46. Espectro IR del compuesto H ₁₅	95
Figura 47. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₅	95
Figura 48. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₅	96
Figura 49. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-[3-(4-clorofenil)acrilóil]-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona (H ₁₆).....	96
Figura 50. Espectro IR del compuesto H ₁₆	97
Figura 51. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₆	97
Figura 52. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₆	98
Figura 53. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-(dietilamino)-3-[3-(3-nitrofenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (H ₁₇).....	98
Figura 54. Espectro IR del compuesto H ₁₇	99
Figura 55. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₇	99
Figura 56. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₇	100
Figura 57. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-(dietilamino)-3-[3-(4-hidroxifenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (H ₁₈).....	100
Figura 58. Espectro IR del compuesto H ₁₈	101
Figura 59. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₈	101
Figura 60. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₈	102
Figura 61. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-[3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acrilóil]-7-(dietilamino)-2H cromen-2-ona (H ₁₉).....	102
Figura 62. Espectro IR del compuesto H ₁₉	103
Figura 63. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₉	103
Figura 64. Espectro de ¹³ C RMN del compuesto H ₁₉	104
Figura 65. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-(dietilamino)-3-[3-(3-etoxi-4-hidroxifenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (H ₁₁₀)	104
Figura 66. Espectro IR del compuesto H ₁₁₀	105
Figura 67. Espectro de ¹ H RMN del compuesto H ₁₁₀	105

Figura 68. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{110}	106
Figura 69. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-metoxi-3-[3-(3-metoxifenil)acriloil]-2H-cromen-2-ona (H_{21})	106
Figura 70. Espectro IR del compuesto H_{21}	107
Figura 71. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{21}	107
Figura 72. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{21}	108
Figura 73. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-[3-(benzo [d] [1,3] dioxol-5-il)acriloil]-7-metoxi-2H-cromen-2-ona (H_{22})	108
Figura 74. Espectro IR del compuesto H_{22}	109
Figura 75. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{22}	109
Figura 76. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{22}	110
Figura 77. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-[3-(4-hidroxifenil)acriloil]-7-metoxi--2H-cromen-2-ona (H_{23})	110
Figura 78. Espectro IR del compuesto H_{23}	111
Figura 79. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{23}	111
Figura 80. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{23}	112
Figura 81. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-metoxi-3-[3-(<i>m</i> -tolil)acriloil]-2H-cromen-2-ona (H_{24})	112
Figura 82. Espectro IR del compuesto H_{24}	113
Figura 83. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{24}	113
Figura 84. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{24}	114
Figura 85. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-3-[3-(3-etoxi-4-hidroxifenil)acriloil]-7-metoxi-2H-cromen-2-ona (H_{25})	114
Figura 86. Espectro IR del compuesto H_{25}	115
Figura 87. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{25}	115
Figura 88. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{25}	116
Figura 89. Estructura del compuesto (<i>E</i>)-7-metoxi-3-[4-nitrofenil]acriloil]-2H-cromen-2-ona (H_{26})	116
Figura 90. Espectro IR del compuesto H_{26}	117
Figura 91. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{26}	117
Figura 92. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{26}	117

Figura 93. Espectro de LC-MS del compuesto H ₁₅	118
Figura 94. Espectro de LC-MS del compuesto H ₁₇	119
Figura 95. Espectro de LC-MS del compuesto H ₁₁₀	120
Figura 96. Espectro de LC-MS del compuesto H ₂₂	121
Figura 97. Espectro de LC-MS del compuesto H ₂₂	122
Figura 98. Espectro de LC-MS del compuesto H ₂₅	123

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Diferentes derivados de cumarina con actividad antiparasitaria.....	28
Tabla 2. Diferentes derivados de chalconas con actividad antiparasitaria.....	32
Tabla 3. Híbridos quinolina-chalcona con actividad antiparasitaria.	40
Tabla 4. Híbrido cumarina-isatina con actividad antiparasitaria.	41
Tabla 5. Híbridos aminoquinolina-chalcona con actividad antiparasitaria.....	42
Tabla 6. Híbrido triazol-chalcona con actividad antiparasitaria.....	43
Tabla 7. Híbridos cumarina-triazolotiadiazina con actividad antiparasitaria.....	44
Tabla 8. Híbrido cumarina-Indolil con actividad antiparasitaria.	45
Tabla 9. Salicilaldehídos sustituidos empleados para la síntesis de 3-acetil-2H-cromen-2-ona.....	53
Tabla 10. Híbridos cumarina-chalcona obtenidos con diferente patrón de sustitución. ...	55
Tabla 11. Usos de híbridos cumarina-chalcona.	63
Tabla 12. Eficiencia (%) de los productos de reacción.....	64
Tabla 13. Actividad citotóxica <i>in vitro</i> de los híbridos cumarina-chalcona.	70
Tabla 14. Actividad antitripanosomal de híbridos sustituidos en posición C4'.	72
Tabla 15. Actividad antitripanosomal de híbridos sustituidos en posición C3'.	74
Tabla 16. Actividad antitripanosomal de híbridos sustituidos en posición C3' y C4'.	75
Tabla 17. Actividad antitripanosomal <i>in vitro</i> de los híbridos cumarina-chalcona.	76
Tabla 18. Actividad antileishmanicida de híbridos sustituidos en posición C4'.	78
Tabla 19. Actividad antileishmanicida de híbridos sustituidos en posición C3'.	79
Tabla 20. Actividad antileishmanicida de híbridos sustituidos en posición C3' y C4'.	81
Tabla 21. Actividad antileishmanial <i>in vitro</i> de los híbridos cumarina-chalcona.....	82
Tabla 22. Parámetros de Lipinski y farmacocinéticos de híbridos cumarina-chalcona. ...	84

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades desatendidas, tropicales y transmitidas por vectores, son un conjunto de afecciones de gran impacto y de difícil control en las comunidades más empobrecidas del mundo, principalmente de América latina, Asia y África. Entre ellas se destaca la leishmaniasis, la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis) y la Malaria o Paludismo.^{1,2}

La leishmaniasis es una enfermedad de carácter crónico, que se puede presentar de manera visceral, cutánea y mucocutánea, la cual es causada por un protozoo que pertenece al género *Leishmania* y a lo largo del mundo existen aproximadamente 20 especies de este protozoo. La infección se transmite principalmente por vectores del género *Phlebotomus* y *Lutzomyia*.³

Según la OMS la leishmaniasis es endémica de 98 países y se calcula que cada año existe entre 700.000 y 1.000.000 de contagios nuevos.⁴ Por otro lado, en Colombia según el Ministerio Nacional de Salud, existen 11.000.000 de personas en riesgo de contagio. Los contagios en 2018 fueron de 6.011 casos y en la mitad de año 2019 existían 2.458 casos.⁵

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria, potencialmente mortal, causada principalmente por un vector perteneciente a la subfamilia de los *Triatominae*. En sus heces alberga el protozoo *Trypanosoma cruzii* causante de la enfermedad, la cual desencadena afecciones cardiacas y digestivas en el hospedador, en las etapas avanzadas.^{6 7} En el mundo se estiman aproximadamente entre 6 y 7 millones de personas infectadas con este parásito y la gran mayoría habita en América latina.⁸ Las estimaciones de infectados en Colombia, al año 2015, fue del orden de 438.000.⁹ Cabe destacar que en el país existen varias zonas endémicas, que son de difícil acceso, pocos recursos y carentes de atención médica avanzada, lo que dificulta en gran medida el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.¹⁰

Estas enfermedades protozoarias son de gran impacto en los países y regiones de bajos recursos, con climas tropicales y de difícil acceso. En la lucha de erradicación o control en los territorios se avecinan varios desafíos; la fragilidad en las pruebas diagnósticas y en la

eficiencia de los tratamientos estándar para combatir estos microorganismos. Lograr bajos porcentajes de resistencia farmacológica y menos efectos secundarios de estos, son los propósitos actuales.^{11,12} La anfotericina B, el metronidazol, el tinidazol, el benznidazol, entre otros, son los fármacos más usados para hacer frente a estas infecciones; estos medicamentos se caracterizan por tener contraindicaciones variadas, desde cefaleas, náuseas, vomito, hasta cardiotoxicidad, toxicidad renal, hepática y gastrointestinal a causa de la toxicidad que poseen.^{13,14,15}

Es importante unir esfuerzos en investigación donde confluya una gran fuerza multidisciplinar, que permita descubrir nuevos tratamientos farmacológicos más óptimos, que hagan frente a las enfermedades desatendidas.¹¹

Las plantas son organismos pluricelulares complejos, las cuales han desarrollado una modulación e interacción muy estrecha con su medio ambiente o entorno, al igual, que al defenderse de sus patógenos, invasores o consumidores. Estas poseen mecanismos de defensa y de respuesta a los estímulos externos. Como resultados a dichos estímulos las plantas producen unos compuestos químicos llamados metabolitos secundarios, los cuales han servido como productos de partida para la creación de nuevas moléculas con uso farmacéutico.^{16,17,18}

La hibridación molecular es una estrategia que a cobrado importancia en la búsqueda farmacológica de moléculas activas en contra de las enfermedades parasitarias. Esta estrategia de hibridación tiene como fundamento la unión de dos o más farmacóforos bioactivos, con el fin de formar una molécula con mayor potencial biológico.^{19,20}

Las cumarinas y chalconas son metabolitos secundarios, que exhiben un amplio espectro de bioactividad y se han convertido en compuestos que suscitan gran interés, debido a sus propiedades antimicrobianas,^{15,21} antitrombóticas,²² antidiabéticas,²³ anticancerígenas,^{24,25} antivirales,²⁶ antiinflamatorias,²⁷ y antiAlzheimer²⁸ etc. De igual manera, se ha observado que las cumarinas y las chalconas, siendo usadas como núcleos o híbridos químicos con otras moléculas poseen actividad biológica en contra de los parásitos causantes de la leishmaniasis, la enfermedad de Chagas y la malaria.^{29,30,31,32} Por lo tanto, estas moléculas se han posicionado como posibles candidatas para ser usadas como fármacos antiparasitarios.³³

En este trabajo se propone realizar la síntesis química de híbridos entre cumarinas y chalconas, mediante las reacciones de Knoevenagel y Claisen-Schmidt, para finalmente evaluar la citotoxicidad y la actividad *in vitro* contra *T. cruzi* y *L. braziliensis* y establecer el efecto de los sustituyentes en el anillo aromático de la cumarina, y en el anillo B de la chalcona, sobre la actividad antiparasitaria.

2. MARCO TEORICO

2.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS

2.1.1. LEISHMANIASIS

La leishmaniasis es una enfermedad causada por parásitos protozoarios del género *Leishmania*, transmitidos por flebotomos de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*; también llamadas leishmaniasis del viejo y nuevo mundo.³ Este microorganismo puede causar varios síndromes clínicos cutáneos, mucocutáneos y viscerales (**Figura 1**). En el mundo existen más de 20 especies de *Leishmania* y se conocen más de 90 especies de flebotomos que transmiten parásitos de *Leishmania*.³⁴ Esta afección se presenta de diferentes formas:

- **Leishmaniasis visceral:** se conoce como kala-azar y es la forma más peligrosa. Sus síntomas característicos son fiebre, pérdida de peso, agrandamiento del bazo y el hígado, y anemia. La mayoría de los casos ocurren en Brasil, África Oriental e India. En el año se producen entre 50.000 y 90.000 nuevos casos en todo el mundo. En 2020, más del 90% de los casos nuevos notificados a la OMS ocurrieron en 10 países: Brasil, China, Etiopía, Eritrea, India, Kenia, Somalia, Sudán del Sur, Sudán y Yemen.^{4,3,35,36}
- **Leishmaniasis cutánea:** causa ulcera en el tejido epitelial. Aproximadamente el 95% ocurren en las Américas, la cuenca del Mediterráneo, Medio Oriente y Asia Central. En 2020, más del 85% de los nuevos casos se produjeron en 10 países: Afganistán, Argelia, Brasil, Colombia, Irak, Libia, Pakistán, Perú, República Árabe Siria y Túnez. Anualmente se producen entre 600.000 y 1 millón de nuevos casos en todo el mundo.^{4,3,35,36}
- **Leishmaniasis mucocutánea:** produce úlceras en las mucosas de la nariz, la boca y la garganta. Más del 90% de los casos de leishmaniasis mucocutánea ocurren en Bolivia, Brasil, Etiopía y Perú.^{4,3,35,36}



Figura 1. Ulceras en áreas expuestas, como la cara o las extremidades, causadas por Leishmaniasis.³⁷

El Instituto Nacional de Salud de Colombia estima que existen once millones de personas en riesgo de sufrir leishmaniasis. En el país los resultados epidemiológicos se han distribuido de la siguiente manera: en 2016 se presentaron 11.850 casos, mientras en 2017 se presentaron 6.983 casos, el 2018 con 6.011 casos y en la semana epidemiológica 26 en la mitad de año 2022 existían 2.212 casos.^{5,38}

2.1.1.1 Transmisión

Los flebótomos o mosquitos hembra infectados son los mosquitos vectores de parásitos de *Leishmania* a través de sus picaduras. Las condiciones bajo las cuales se produce la transmisión de la leishmaniasis dependen de las características del parásito y de la especie de flebótomo, las características ecológicas locales de los sitios de transmisión, la exposición actual y pasada de la población humana al parásito y el comportamiento humano. Hasta el momento se han identificado 70 especies animales, incluidos humanos, como receptores de los parásitos de la *Leishmania*.³⁹

A continuación se observa el ciclo de vida del parásito en el vector y en el organismo reservorio como lo es el ser humano (**Figura 2**).

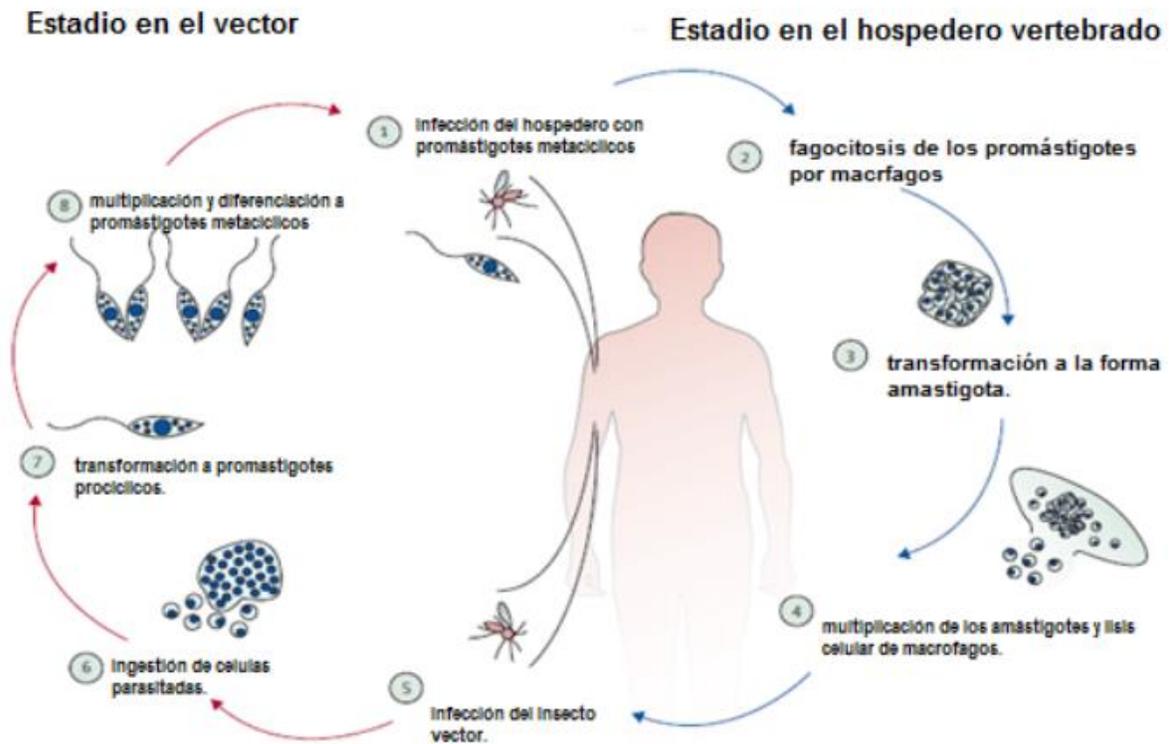


Figura 2. Ciclo de vida de *Leishmania* spp.³⁹

El ciclo inicia cuando el hospedero mamífero recibe la picadura de un insecto vector infectado. El parásito es insertado en la piel y fagocitado por macrófagos, en donde la forma intracelular del parásito (amastigote) se replica. Posteriormente, ocurre la lisis de los macrófagos infectados propagando la enfermedad. Finalmente el vector succiona sangre infectada y comienza el ciclo epidemiológico nuevamente.⁴⁰

2.1.1.2 Diagnóstico y tratamiento

Principalmente existen las siguientes técnicas diagnósticas que contribuyen en los índices de atención óptima contra la leishmaniasis:

- Microscopía óptica de muestras de tejido teñido con Wright-Giemsa o Giemsa, citologías por impronta o aspirados
- Análisis de anticuerpos (rk39) de leishmaniasis visceral
- Cultivo de biopsias
- Pruebas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa

2.1.1.2.1 Leishmaniasis cutánea

Existen diferentes opciones para tratamiento tales como anfotericina B liposomal, miltefosina y desoxicolato de anfotericina B. El estibogluconato de sodio o el antimonio de meglumina pueden usarse si la infección se adquirió en áreas donde la resistencia al antimonio no es prevalente. Los antimoniales pentavalentes (estibogluconato de sodio, antimonio de meglumina) (**Figura 3**) deben usarse sólo si es probable que la infección por una especie de *Leishmania* es susceptible. Las dosis de ambos depende de su contenido de antimonio pentavalente (20 mg/kg por vía intravenosa lenta o por vía intramuscular, 1 vez al día durante 20 días). Los efectos adversos de estos medicamentos incluyen náuseas, vómito, malestar general, aumento de la amilasa y/o las enzimas hepáticas, nefrotoxicidad y cardiotoxicidad (arritmias, depresión miocárdica, insuficiencia cardíaca, cambios en el electrocardiograma, paro cardíaco). La incidencia de efectos adversos aumenta con la edad. El fármaco se suspende si los pacientes presentan cardiotoxicidad.^{41,42}

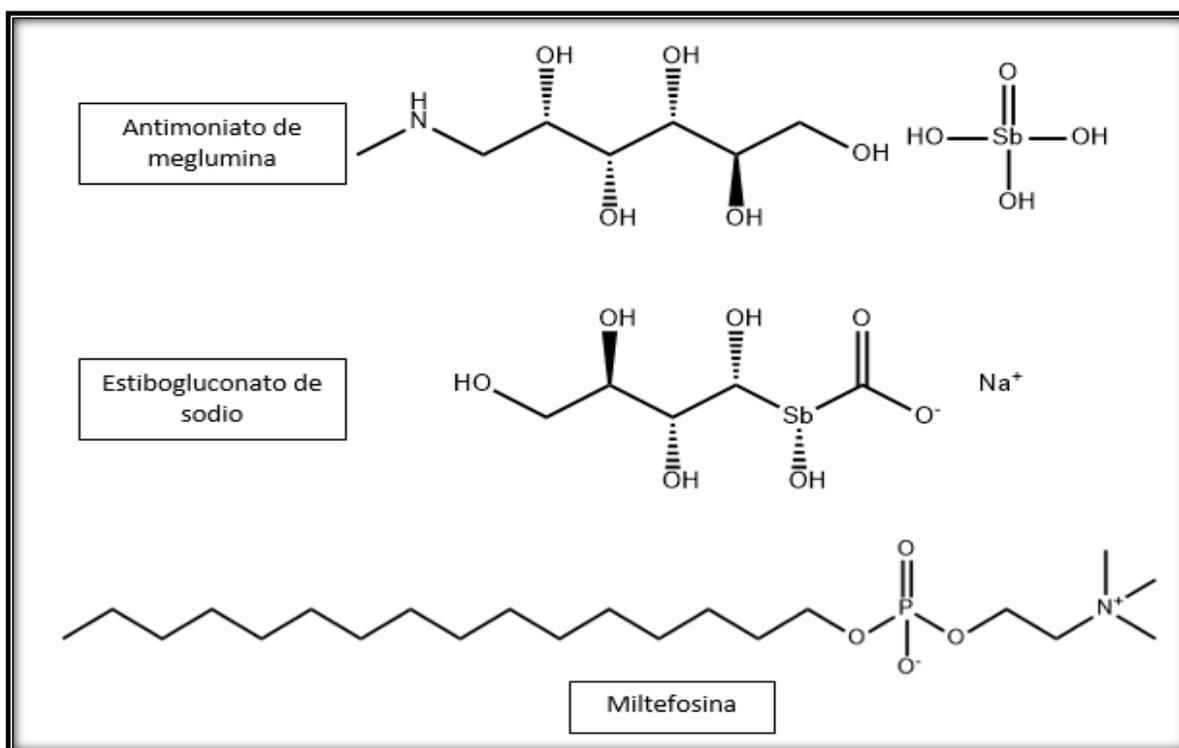


Figura 3. Estructura química de estibogluconato de sodio y antimonio de meglumina.

2.1.1.2.2 Leishmaniasis mucosa

Estudios recientes sugieren para el tratamiento la anfotericina B liposomal (**Figura 4**) en una dosis acumulada que varía entre 20 y 60 mg/kg o miltefosina en dosis según el peso corporal: 30 a 44 kg, 50 mg por vía oral 2 veces al día durante 28 días; ≥ 45 kg, 50 mg por vía oral 3 veces al día durante 28 días. Los efectos adversos de la miltefosina incluyen náuseas, vómitos, elevaciones transitorias de las aminotransferasas y vértigo; el fármaco está contraindicada durante el embarazo, de modo que las mujeres en edad fértil que toman este medicamento deben usar medidas efectivas de control de la natalidad.^{41,42}

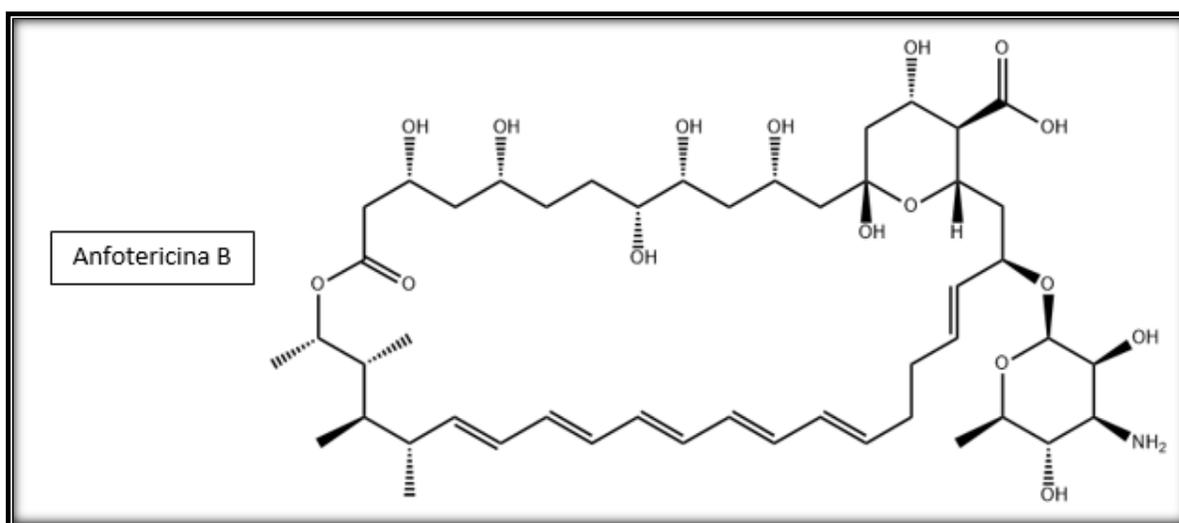


Figura 4. Estructura química de anfotericina B.

2.1.1.2.3 Leishmaniasis visceral

La anfotericina B liposómica y la miltefosina están aprobados por la FDA (US Food and Drug Administration) para el tratamiento de la leishmaniasis visceral; otros preparados de anfotericina asociada con lípidos podrían ser eficaces pero son menos estudiados.

La posología de la anfotericina B liposómica es:

- Para pacientes inmunocompetentes: 3 mg/kg IV, 1 vez al día durante 5 días y luego 1 vez al día los días 14 y 21 (dosis total de 21 mg/kg).
- Para pacientes con sida u otras inmunodeficiencias: 4 mg/kg IV, 1 vez al día en los días 1 a 5, 10, 17, 24, 31 y 38 (dosis total de 40 mg/kg).^{41,42}

2.1.2 TRIPANOSOMIASIS

El protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* es el causante de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, la cual es una enfermedad parasitaria crónica. Se han identificado tres fases de la enfermedad de chagas aguda corta y otra crónica de larga duración, separadas por una clínicamente asintomática, llamada fase indeterminada; existe un compromiso visceral e incluso causando la muerte en la primera y última fase presentada.^{43,8}

En Colombia, se han identificado 23 especies de triatomíneos que cuentan con la capacidad de transmisión del parásito *T. cruzi*. Las especies más reconocidas por su importancia epidemiológica son aquellas distinguidas como domiciliadas o que invaden el peridomicilio humano son: *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma maculata*, *Rhodnius robustus*, *Rhodnius brethesi*, *Triatoma venosa* y *Rhodnius pallescens*.⁴³

Se estima que en el mundo existen entre seis y siete millones de personas infectadas por *T. cruzi*. Esta afección es prevalente en 21 países de América Latina, considerados como territorios endémicos. Anteriormente, la enfermedad de Chagas se encontraba rezagada a las zonas rurales de la Región de las Américas (exceptuando las islas del Caribe). Debido a la mayor movilidad entre países y a la urbanización de territorios, la enfermedad se ha ido detectando cada vez más en América del Norte, Europa, África, el Mediterráneo Oriental y el Pacífico Occidental.^{44,8}

En Colombia existen varias zonas endémicas, que son de difícil acceso, pocos recursos y carentes de atención médica avanzada, lo que dificulta en gran medida el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.¹⁰ Es frecuente en la cuenca del río Magdalena, en la región del Catatumbo, la Sierra Nevada de Santa Marta, el Piedemonte de los Llanos Orientales y la Serranía de la Macarena. Los departamentos que presentan mayor endemia son: Santander, Norte de Santander, Cundinamarca, Boyacá, Meta, Casanare, Arauca, Tolima, Huila y Bolívar. La región Atlántica es potencialmente endémica para la transmisión de la enfermedad de Chagas. En Colombia se estima que aproximadamente el 5% de la población puede estar infectada y cerca del 10% se encuentra en riesgo de adquirirla. A fecha del 2015 contaba con 438.000 infectados según el Instituto Nacional de Salud.^{45,46,47,9}

2.1.2.1 Transmisión

La enfermedad de Chagas es transmitida a mamíferos y humanos por insectos triatomíneos (Hemíptera: Reduviidae), los cuales mediante picaduras succionan la sangre que los alimenta. Sin embargo, la infección se produce cuando el insecto deposita sus heces en la piel, a través de la herida generada por la picadura o de otras (**Figura 5**). Posteriormente los microorganismos infectan las células para finalmente multiplicarse y producir lisis celular y entrar al torrente sanguíneo. Aquí comienza el estadio diagnóstico. Si un triatoma se alimenta de sangre en este estadio, se convierte en vector transmisor.⁴⁸

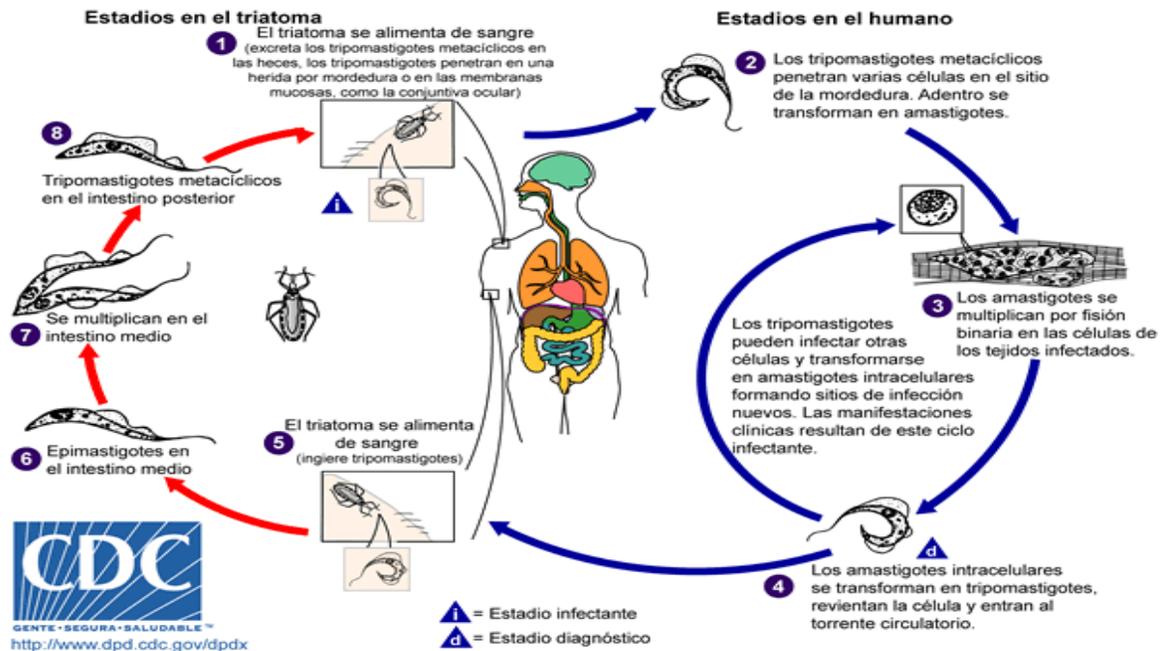


Figura 5. Ciclo de vida de Trypanosoma. ⁴⁸

Existen otras formas de transmisión poco comunes, las cuales también son importantes de considerar como la vía cogenita, transfuncional, transplante de órganos y por último la transmisión oral, siendo esta última por la ingestión de alimentos y bebidas contaminados directamente con el parásito o por medio de heces del vector.⁴⁰

2.1.2.2 Diagnóstico y tratamiento

Existen diferentes estrategias que sirven como pruebas diagnósticas para la enfermedad de chagas, estas son:

- Evaluación con microscopia óptica de un frotis de sangre (fino o grueso) o tejido (enfermedad de Chagas aguda)
- Prueba serológica
- Pruebas basadas en PCR

El número de tripomastigotes en el frotis de sangre periférica es elevado durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas y estos pueden detectarse fácilmente durante el examen de los frotis o estudios de gota gruesa. También se puede realizar la prueba de anticuerpos fluorescentes indirectos (AFI), inmunoensayos enzimáticos (EIA) o enzimoimmunoanálisis (ELISA) para detectar anticuerpos contra *T. cruzi*. Las pruebas serológicas son sensibles pero pueden producir resultados falsos positivos en pacientes con leishmaniasis u otras enfermedades. Las pruebas basadas en PCR se usan cuando es probable que el nivel de parasitemia sea alto, como ocurre en la enfermedad de Chagas aguda.^{49,50}

Por otra parte, en el tratamiento de esta enfermedad se hace uso de los únicos fármacos antiparasitarios (**Figura 6**) eficaces como:

Benznidazol: en los adultos y los niños mayores de 12 años, entre 2.5 y 3.5 mg/kg por vía oral 2 veces al día durante 60 días.

En los niños menores a 12 años, 2.5 a 3.75 mg/kg 2 veces al día durante 60 días.

Nifurtimox: en los pacientes mayores a 17 años, entre 2 y 2.5 mg/kg por vía oral 4 veces al día durante 90 días.

En los niños entre 11 y 16 años, entre 3 y 3.75 mg/kg 4 veces al día durante 90 días.

En los niños entre 1 y 10 años, entre 4 y 5 mg/kg 4 veces al día durante 90 días.

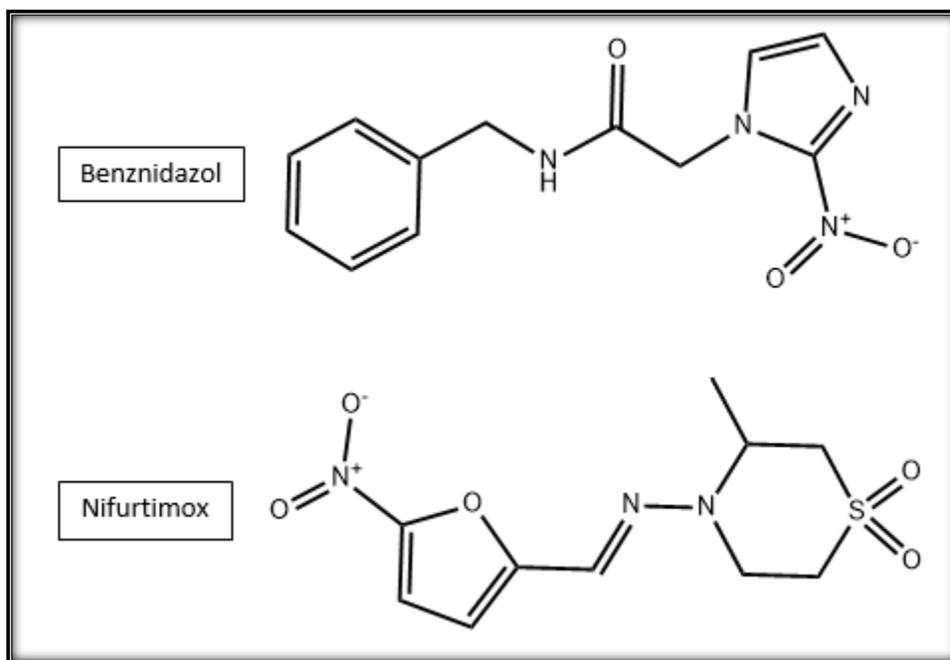


Figura 6. Estructura química de Benznidazol y Nifurtimox.

Estos medicamentos (**Figura 6**) tienen una toxicidad considerable, la cual aumenta con la edad. Las contraindicaciones para el tratamiento incluyen enfermedad hepática o renal grave. Los niños pequeños suelen tolerar el tratamiento mejor que los adultos. Los efectos adversos frecuentes del benznidazol incluyen dermatitis alérgica, anorexia, pérdida de peso, neuropatía periférica e insomnio. Los efectos adversos comunes del nifurtimox son anorexia, náuseas, vómitos, pérdida de peso, polineuropatía, cefalea, mareos y vértigo.^{49,50}

2.2 ASPECTOS QUÍMICOS

2.2.1 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS

El hombre, desde hace miles de años, ha buscado la solución a muchas de sus afecciones en la naturaleza. Las plantas han sido usadas no solo de manera ornamental y de protección, sino que han sido usadas como una fuente medicinal inagotable, que hasta la contemporaneidad sigue vigente. Las moléculas de origen natural o llamados metabolitos secundarios, son un gran campo de exploración.^{51,52}

En la lucha contra las afecciones parasitarias es importante unir esfuerzos investigativos donde confluya una gran fuerza multidisciplinar, que permita descubrir nuevos tratamientos farmacológicos más óptimos, que hagan frente a las enfermedades desatendidas.¹¹

Es necesario explorar otras fuentes de medicamentos útiles para combatir la leishmaniasis y la tripanosomiasis; los cuales contribuyan con mejorar los efectos adversos de los tratamientos ya existentes, la resistencia parasitaria y la facilidad de acceso a los tratamientos. A través de los años las cumarinas, las chalconas y los híbridos de estas moléculas se han posicionado como posibles alternativas terapéuticas. A continuación se muestran algunas de ellas.

2.2.1.1 Cumarinas

Las cumarinas tienen características estructurales provenientes de la 2H-1-benzopirán-2-ona, que también se consideran lactonas del ácido o-hidroxicinámico (**Figura 7**). Las cumarinas son metabolitos secundarios producidos en plantas, aunque también se han aislado de bacterias y organismos marinos,^{53,54,55} y se les ha hallado una gran variedad de bioactividades. Las cumarinas son compuestos químicos que también se pueden obtener mediante síntesis química (Reacción de Knoevenagel) haciendo uso de un salicilaldehído o un derivado aril-sustituído, y un β -cetoéster, como el malonato de dietilo.⁵⁶

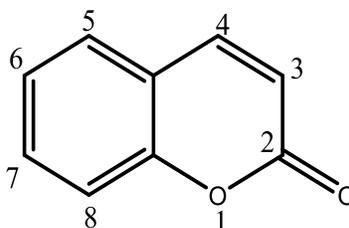
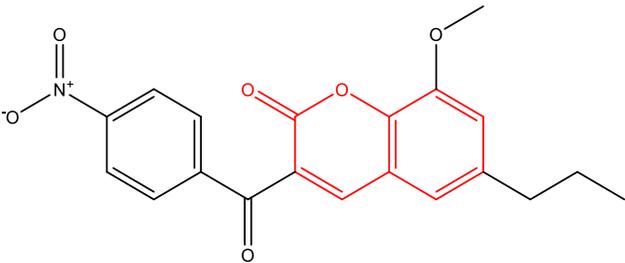
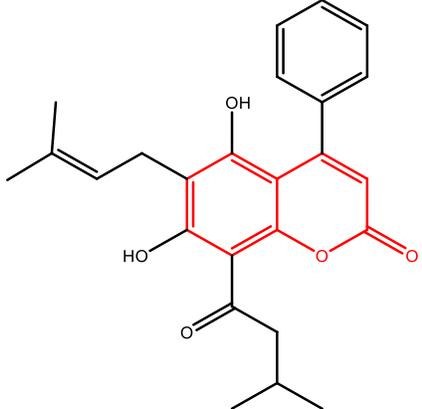
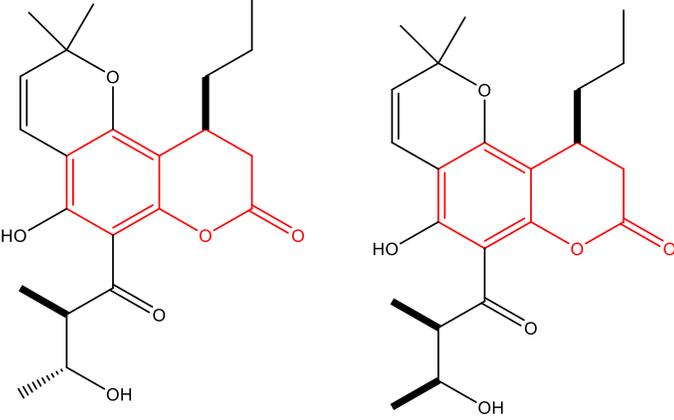
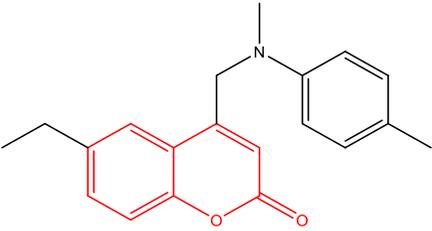
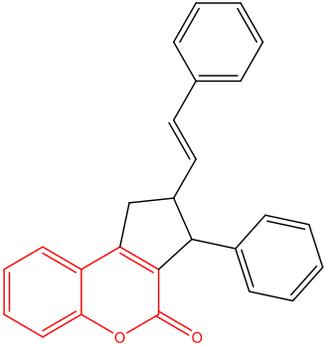
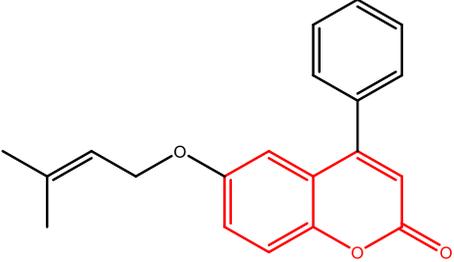
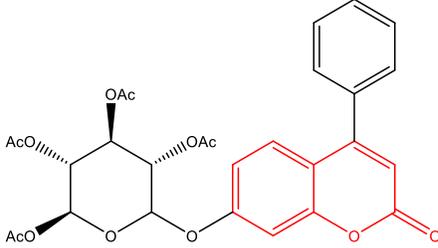
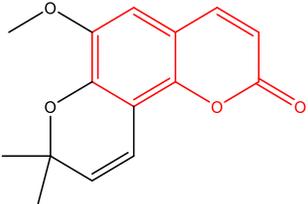


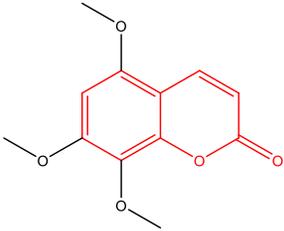
Figura 7. Estructura química de la cumarina.

Se ha observado que algunas cumarinas y derivados poseen actividad contra algunos parásitos causantes de la leishmaniasis y la enfermedad de Chagas. En la **Tabla 1**, se ilustran las cumarinas estudiadas.

Tabla 1. Diferentes derivados de cumarina con actividad antiparasitaria.

Compuesto	Estructura	Actividad
(1a)	 <p>8-metoxi-3-(4-nitrobenzoil)-6-propil-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
(2a)	 <p>5,7-dihidroxi-6-(3-metilbut-2-en-1-il)-8-(3-metilbutanoil)-4-fenil-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
(3a) y (4a)	 <p>(S)-5-hidroxi-6-((2R,3R)-3-hidroxi-2-metilbutanoil)-2,2-dimetil-10-propil-9,10-dihidro-2H,8H-pirano[2,3-f]cromen-8-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Leishmania infantum</i>

(5a)	 <p>6-etil-4-((metil(p-tolil)amino)metil)-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
(6a)	 <p>(E)-3-fenil-2-estiril-2,3-dihidrociclopenta[c]cromen-4(1H)-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
(7a)	 <p>6-((3-metilbut-2-en-1-il)oxi)-4-fenil-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Leishmania amazonensis</i>
(8a)	 <p>(2S,3R,4S,5S)-6-((2-oxo-4-fenil-2H-cromen-7-il)oxi)tetrahidro-2H-pirano-2,3,4,5-tetraetil tetraacetato</p>	<i>Leishmania amazonensis</i>
(9a)	 <p>6-metoxi-8,8-dimetil-2H,8H-pirano[2,3-f]cromen-2-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i>

		<i>Leishmania amazonensis</i>
(10a)	 <p>5,7,8-trimetoxi-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Leishmania amazonensis</i>

La infección por *Trypanosoma cruzi* ocasiona una sintomatología cardíaca, traducida como una miocarditis aguda. El compuesto **(1a)** se sintetizó y probó de manera individual y acompañado con benznidazol, en ratones infectados. La supervivencia de los ratones con **(1a)** fue total. El compuesto no mostró hepatotoxicidad y acompañado con el benznidazol, logro atenuar la infección, la inflamación y la miocarditis.⁵⁷

El compuesto **(2a)** fue extraído de *Calophyllum brasiliense*, y se evaluó la actividad *in vitro* en epimastigotes y tripomastigotes. Mostrando resultados finales de Concentración Letal 50 (LC₅₀) de 85.8 y 36.9 μM , respectivamente. Se sugiere que los mecanismos de mammea A/BA en contra de *T. cruzi*, están direccionados a procesos de autofagia y apoptosis. Debido a los resultados obtenidos en cuanto al aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), integridad de la membrana plástica y daño al ADN.⁵⁸

A partir de extractos metanólicos de corteza de *Calophyllum brasiliense* se obtuvieron los los compuestos **(3a)** y **(4a)**, los cuales mostraron actividad biológica contra *T. cruzi* obteniendo valores de EC₅₀ de 8.2 y 12.1 μM , respectivamente. Al igual, que con *L. infantum*, los valores obtenidos de EC₅₀ fueron 37.1 y 29.1 μM , respectivamente.⁵⁹

Por síntesis química fue sintetizado el compuesto **(5a)**, para los ensayos de actividad anti-tripanosomica se utilizaron epimastigotes (cepa Tulahuen 2). Se utilizó como control positivo el Nifurtimox. Se obtuvieron valores de Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀) de $6.4 \pm 1 \mu\text{M}$ para el compuesto **(5a)** y de $5.0 \pm 1 \mu\text{M}$ para el Nifurtimox. Adicionalmente, el compuesto **(5a)** fue menos tóxico que el Nifurtimox. Las cadenas hidrofóbicas y átomos electronegativos disminuyeron la actividad.⁶⁰

El compuesto **(6a)**, producido por síntesis química, se evaluó de manera *in vitro* contra tripomastigotes y amastigotes intracelulares de *T. cruzi*; los resultados mostraron un valor IC_{50} de $0.46 \pm 0.12 \mu\text{M}$, mostrando mejor actividad que el benznidazol. Este compuesto presentó un buen acople inhibitorio de la enzima triosafosfato isomerasa, a lo cual se aduce su bioactividad.⁶¹

Los resultados más promisorios de la serie sintetizada a partir de 7-hidroxi-4-fenilcumarina, son expuestos por los compuestos **(7a)** y **(8a)**. Estos se evaluaron contra *L. amazonensis*, en los estadios promastigote y amastigote. El compuesto **(7a)** presenta una prenilación y el **(8a)** una sustitución de tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil. En la bioactividad medida para el estadio de promastigote se registraron resultados de IC_{50} de 21.35 y 10.03 μM , respectivamente. Para el estadio amastigote, los valores IC_{50} fueron de 58.10 y 34.93 μM para **(7a)** y **(8a)**, respectivamente.⁶²

A partir de la planta *Zanthoxylum tingoassuiba* es una especie de planta nativa de Brasil y es utilizada como fuente farmacológica. Los extractos se prepararon a partir de raíces de esta planta, haciendo uso de mezcla de solventes (metanol/cloforomo) Según los autores, el compuesto **(9a)** reduce la proliferación de amastigote de *T. cruzi* teniendo como valor de inhibición $IC_{50} = 59,8 \mu\text{M}$. Por otra parte, el compuesto **(10a)**, el cual posee sustituyentes metoxi, resulta ser el segundo más activo, $IC_{50} = 25.5 \mu\text{M}$. Los ensayos realizados contra *L. amazonensis* mostraron que los compuestos **(9a)** y **(10a)** poseen actividad inhibitoria, con valores $IC_{50} = 70 \mu\text{M}$ y $IC_{50} = 57.7 \mu\text{M}$, respectivamente.⁶³ Se presume que las cumarinas poseen actividad leishmanicida y tripanocida, debido a la inhibición de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) de la vía glucolítica y afectan la estructura de los parásitos.^{64,65}

2.2.1.2 Chalconas

Estructuralmente se le conoce como 1,3-diaril-2-propen-1-onas (**Figura 8**), están formadas por dos anillos aromáticos unidos mediante un carbonilo insaturado.⁶⁶ Las chalconas se encuentran en la naturaleza como precursores de los flavonoides y los isoflavonoides. Las chalconas se han identificado como moléculas de gran importancia debido a la amplia diversidad de actividades biológicas que poseen, lo que ha generado interés en su síntesis.

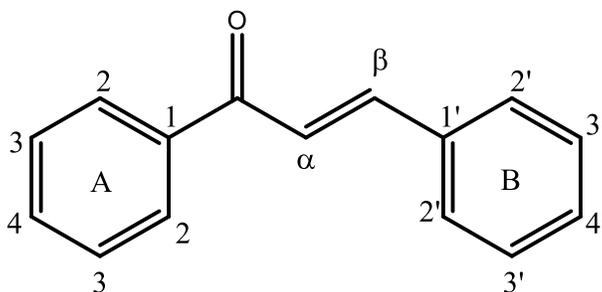
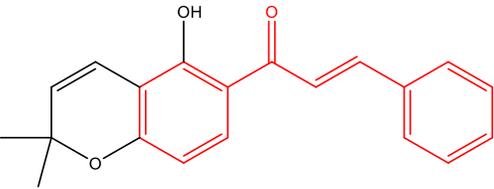
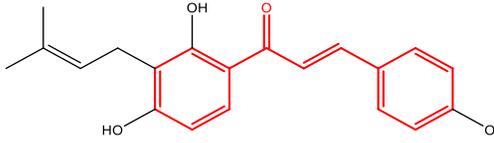
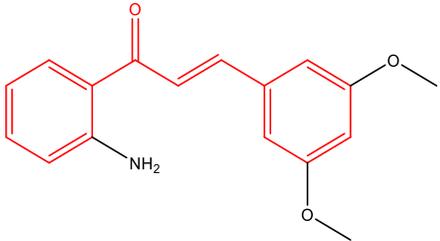
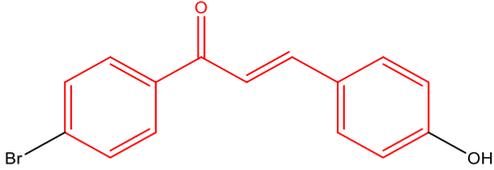
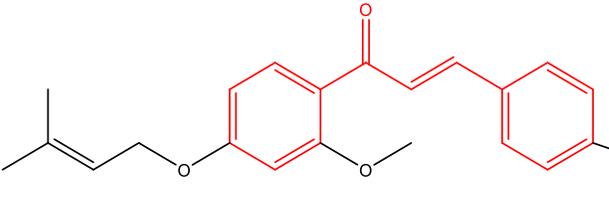


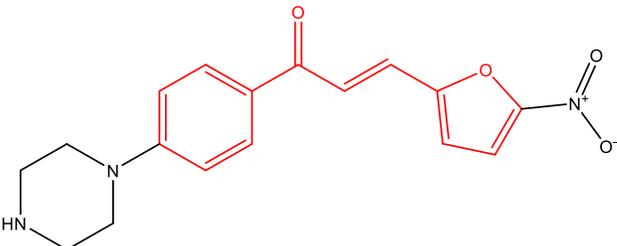
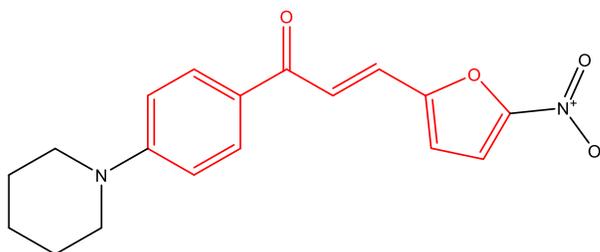
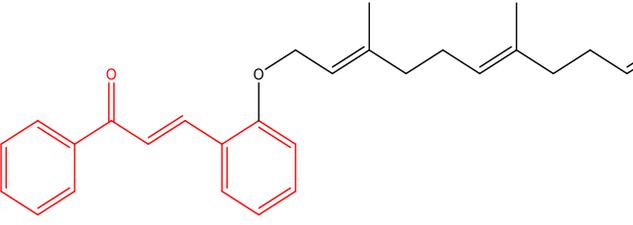
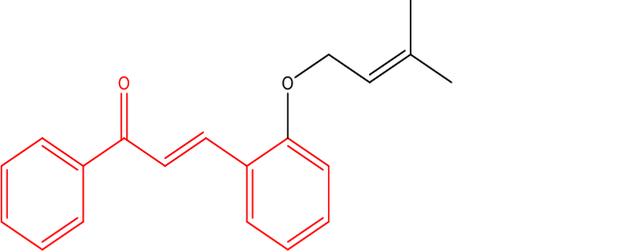
Figura 8. Estructura química de la chalcona.

Las chalconas se pueden obtener mediante síntesis química, por medio de la reacción Claisen-Schmidt, utilizando como reactivos un aldehído y una cetona, en un medio básico o ácido.⁶⁸ Se ha observado que algunas chalconas y derivados, poseen actividad contra parásitos causantes de la leishmaniasis, la enfermedad de Chagas y la malaria. En la tabla 2 se consignan algunos ejemplos.

Tabla 2. Diferentes derivados de chalconas con actividad antiparasitaria.

Compuesto	Estructura	Actividad
(1b)	<p>(E)-1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona</p>	<i>Trypanosoma brucei</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>
(2b)	<p>(E)-1-(2-hidroxi-4,5-dimetoxifenil)-3-(3-metoxifenil)prop-2-en-1-ona</p>	<i>Trypanosoma brucei</i>

<p>(3b) y (4b)</p>	 <p>(E)-1-(5-hidroxi-2,2-dimetil-2H-cromen-6-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona</p>  <p>(E)-1-(2,4-dihidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)fenil)-3-(4-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Trypanosoma cruzi</i></p> <p><i>Leishmania amazonensis</i></p>
<p>(5b)</p>	 <p>(E)-1-(2-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Trypanosoma cruzi</i></p> <p><i>Leishmania braziliensis</i></p>
<p>(6b)</p>	 <p>(E)-1-(4-bromofenil)-3-(4-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Leishmania donovani</i></p>
<p>(7b)</p>	 <p>(E)-1-(2-metoxi-4-((3-metilbut-2-en-1-il)oxi)fenil)-3-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Leishmania amazonensis</i></p>

<p>(8b) y (9b)</p>	 <p>(E)-3-(5-nitrofuran-2-yl)-1-(4-(piperazin-1-yl)fenil)prop-2-en-1-ona</p>  <p>(E)-3-(5-nitrofuran-2-yl)-1-(4-(piperidin-1-yl)fenil)prop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Leishmania infantum</i></p>
<p>(10b) y (11b)</p>	 <p>(E)-1-fenil-3-(2-(((2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il)oxi)fenil)prop-2-eno-1-uno</p>  <p>(E)-3-(2-((3-metilbut-2-en-1-il)oxi)fenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Trypanosoma cruzi</i></p> <p><i>Leishmania infantum</i></p> <p><i>Leishmania amazonensis</i></p>

De los extractos obtenidos de *Polygonum ferrugineum*, mediante un incremento de polaridad desde hexano hasta metanol, se obtuvo el compuesto **(1b)**, el cual fue evaluado en *Trypanosoma brucei* y *Trypanosoma cruzi* en estadios pro-cíclico y epimastigote, respectivamente. En *T. cruzi* se obtuvo un IC₅₀ de 9.5 μM y para *T. brucei* un IC₅₀ de 6.2 μM. La citotoxicidad de **(1b)**, medida en la línea celular Hep G2, mostró menos toxicidad que el

control positivo (benznidazol) para la prueba de *T. cruzi*. Por otro lado, los autores mediante los resultados de las pruebas de RT-PCR, sugieren que el compuesto **(1b)** interfiere en una lectura eficiente del ARNm, llevando a un déficit en la síntesis de proteínas.⁶⁹

En ensayos antiparasitarios utilizando sangre contaminada con *T. brucei* L427 WT en un rango de concentración (1.3-7.4 μM). El compuesto **(2b)** demostró actividad antiparasitaria con valor de $\text{EC}_{50} = 4.2 \mu\text{M}$. Los autores indican la presencia del grupo metoxi en el anillo B, en posición 3, aumenta la actividad. La cual también se podría ver inactivada por la presencia del grupo metoxi en posición 4 del mismo anillo. El compuesto **(2b)** fue sometido a pruebas farmacocinéticas en ratones BALB/c, demostrando un aumento de 7.5 veces la biodisponibilidad oral en presencia de hidroxipropil- β -ciclodextrinas.⁷⁰

Los metabolitos **(3b)** y **(4b)** se aislaron de *Drosera mannii* y *Dorstenia kameruniana*, respectivamente. La actividad leishmanicida y tripanosómica se evaluó en amastigotes intracelulares de *T. cruzi* y *L. amazonensis*. El compuesto **(3b)** tuvo una actividad leishmanicida con IC_{50} igual a 6.66 μM y actividad tripanosómica con $\text{IC}_{50} = 13.63 \mu\text{M}$. El compuesto **(4b)** no mostró actividad. Los autores tuvieron como objetivo realizar pruebas combinatorias de los compuestos, con la finalidad de mejorar las actividades evaluadas. La combinación de **(3b)** y **(4b)** en proporción 1:1 y 3:1, lograron obtener valores de actividad tripanosómica IC_{50} de 10.01 y 7.78 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.⁷¹

La síntesis del compuesto **(5b)** se llevó a cabo con derivados de acetofenona y benzaldehído, disueltos en etanol/KOH. Para la evaluación antiprotozoaria en *T. cruzi* y *L. braziliensis* se utilizaron amastigotes intracelulares. El compuesto **(5b)** exhibió la mayor actividad para *T. cruzi* con $\text{EC}_{50} = 8.1 \mu\text{M}$ y para *L. braziliensis* con $\text{EC}_{50} = 22.6 \mu\text{M}$. Los mejores resultados de actividad tripanocida y leishmanicida, se presentaron en compuestos con sustituyentes $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$, los cuales pueden formar enlaces de hidrogeno.⁷²

Los promastigotes utilizados para la evaluación de actividad del compuesto sintético **(6b)** fueron extraídos de un paciente positivo, mediante aspiración ganglionar. El resultado de actividad biológica en contra de *Leishmania donovani* fue de $\text{IC}_{50}=0.03 \mu\text{M}$. Se observó que las sustituciones en el anillo A, Br en posición *para*, son más potentes que el mismo control positivo (anfotericina B). Por otra parte, mediante el análisis de acoplamiento molecular con la enzima tripanotona reductasa, se observó que el grupo carbonilo forma un puente de hidrógeno con el residuo THR335 del sitio activo de la enzima.⁷³

La síntesis de los compuestos **(5b)**, **(6b)** y **(7b)**, obedece al procedimiento clásico de la reacción de Claisen-Schmidt en presencia de una base. El compuesto **(7b)**, evaluado en

promastigotes de *L. donovani*, mostró un $IC_{50}=3.0 \mu M$; cabe destacar que en la evaluación de citotoxicidad en la línea celular Vero, el compuesto **(7b)** fue 3 veces menos tóxico que el control positivo (anfotericina B). El compuesto **(7b)** también exhibió IC_{50} (a las 72 h) en *L. tropica* de $5.2 \mu M$, en *L. major* de $3.3 \mu M$ y en *L. infantum* de $1.6 \mu M$. Los resultados de inhibición de la enzima tripanotión reductasa por parte del compuesto **(7b)**, demostraron su capacidad leishmanicida; según los autores con un K_i de $0.45 \pm 0.11 \mu M$, seis veces menor que el IC_{50} .⁷⁴

Los compuestos **(8b)** y **(9b)** se sintetizaron y sometieron a un modelado por homología y acoplamiento molecular, teniendo como resultado que los compuestos en mención tienen una alta afinidad por las proteínas de cisteína proteasa y procatepsina L. Los compuestos **(8b)** y **(9b)** se evaluaron en amastigotes de *L. infantum* y la citotoxicidad en macrófagos y en células Vero. La actividad contra el parásito presentó un $EC_{50} = 9.6 \mu M$ para **(8b)** y $EC_{50} = 6.3 \mu M$ para **(9b)**. Los autores sugieren usar grupos heterocíclicos como el furano en el anillo B, y grupos voluminosos donantes de electrones en posición 4 del anillo A, para favorecer la actividad. Los compuestos presentaron valores de citotoxicidad en macrófagos $> 50 \mu M$, resultando mejores que la anfotericina B. Se presume que la actividad inhibitoria del crecimiento parasitario, está dado, por interacción generada a través de un enlace de hidrogeno en el Trp151 con el carbonilo de la chalcona, en el sitio activo de la enzima procatepsina L.⁷⁵

Se ha detectado que el incremento en la lipofilicidad de los flavonoides, por medio de prenilación, aumenta la actividad contra bacterias, hongos y virus.⁷⁶ Los compuestos **(10b)** y **(11b)** son chalconas preniladas con un grupo farnesil o isoprenil, en la posición 3 del anillo B. Entre las chalconas evaluadas, **(10b)** y **(11b)** fueron las más activas. Los resultados en promastigotes y amastigotes de *L. amazonensis* y de *L. infantum*, y en epimastigotes de *T. cruzi*, mostraron que el compuesto **(10b)** tiene un $EC_{50} = 6.47 \mu M$ y $EC_{50} = 2.90 \mu M$ para promastigotes y amastigotes, respectivamente de *L. amazonensis*. $EC_{50} = 10.21 \mu M$ y $EC_{50} = 2.24 \mu M$ para promastigotes y amastigotes, respectivamente de *L. infantum*. Por último, el compuesto **(11b)** tuvo la mejor actividad contra tripanosoma, con $EC_{50} = 21.58 \mu M$.⁷⁷

2.2.1.3 Híbridos

La hibridación molecular tiene como objetivo la generación de nuevos híbridos que mantengan las características más relevantes y preseleccionadas de las moléculas independientes. La hibridación se da a través de una estrategia de diseño de nuevos

prototipos, basado en el reconocimiento de subunidades farmacofóricas en la estructura de dos derivados bioactivos; este proceso se conoce como hibridación molecular.^{78,79}

Los híbridos se pueden diferenciar en cuanto al modo de enlace de las unidades farmacofóricas, dependiendo de esta característica se dividen en:

2.2.1.3.1 Híbridos enlazados con espaciadores

Las unidades que componen el híbrido pueden estar unidas por un enlazador, aquí pueden existir híbridos escindibles y no escindibles.^{20,80}

2.2.1.3.1.1 Híbridos no escindibles

En la **Figura 9** se muestra las unidades farmacofóricas están unidas directamente, una a la otra, por medio de un enlace no hidrolizable o enzimáticamente estable.^{20,80}

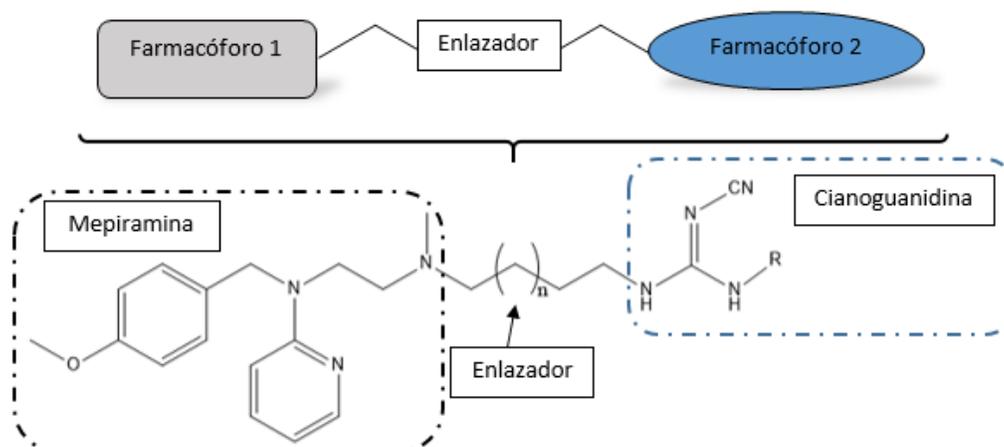


Figura 9. Esquema y ejemplo de híbrido no escindibles.^{20,80}

2.2.1.3.1.2 Híbridos escindibles

En la **Figura 10** se muestran los híbridos que están formados por moléculas unidas mediante un enlace que hace parte de la estructura de cada uno de los farmacóforos. Los enlazantes más comunes son enlaces éster, amidas, carbamatos y disulfuro.^{20,80}

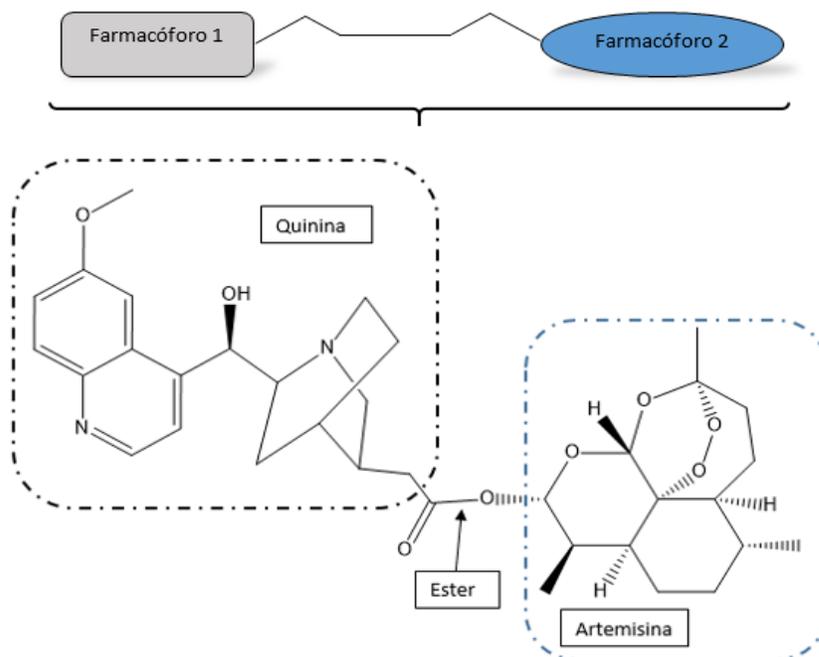


Figura 10. Esquema y ejemplo de híbrido escindibles.^{20,80}

2.2.1.3.2 Híbridos fusionados

Las moléculas que forman el híbrido no están unidas por ningún enlazador (**Figura 11**), es decir, los farmacóforos están continuos.^{20,80}

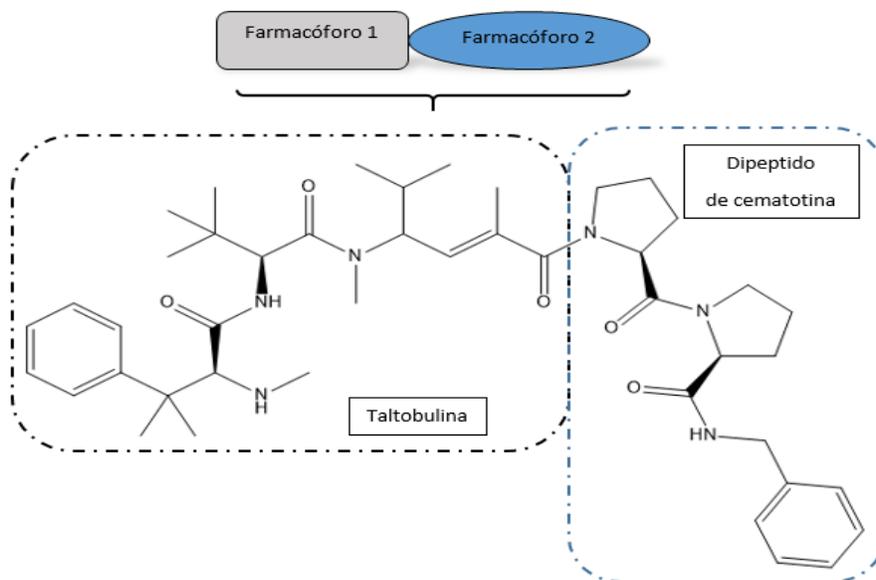


Figura 11. Esquema y ejemplo de híbrido fusionados.^{20,80}

2.2.1.3.3 Híbridos fusionados o superpuestos

Están formados por moléculas que se encuentran fusionadas o superpuestas una de la otra (ver **Figura 12**), formando un híbrido pequeño y con diferencias químicas, pero manteniendo propiedades bioactivas.^{20,80}

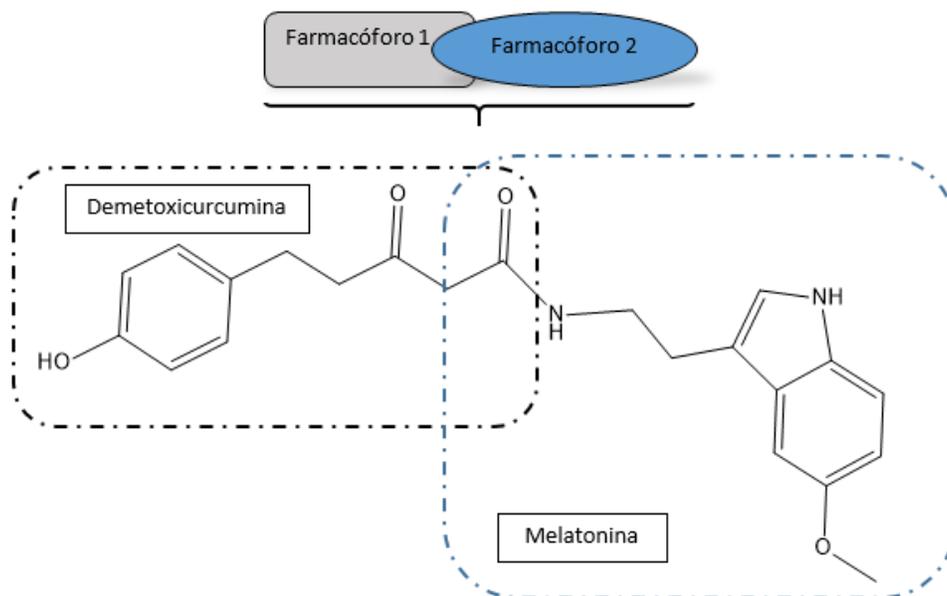


Figura 12. Esquema y ejemplo de híbrido fusionados o superpuestos.^{20,80}

Esta estrategia para diseñar nuevos prototipos y es una de las metodologías que más se ha afianzado en la búsqueda de medicamentos con mejores dinámicas de acción; por lo cual, se ha posicionado como un procedimiento imperativo en el diseño de nuevos medicamentos. La naturaleza ha sido desde la existencia humana, quien le ha proporcionado de manera continua la solución para muchas de sus afecciones. Es así, como el ser humano siempre ha buscado en los productos naturales una salida farmacológica.⁸¹

2.2.1.4 Híbridos con actividad antiparasitaria

A continuación se muestran híbridos sintetizados haciendo uso de los núcleos de cumarina o de chalcona.

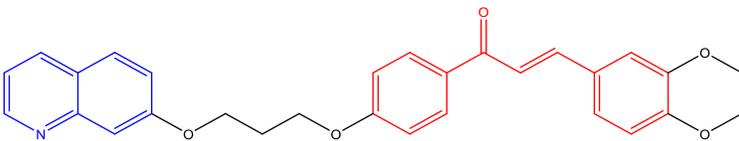
2.2.1.3.4.1 Híbridos quinolina-chalcona

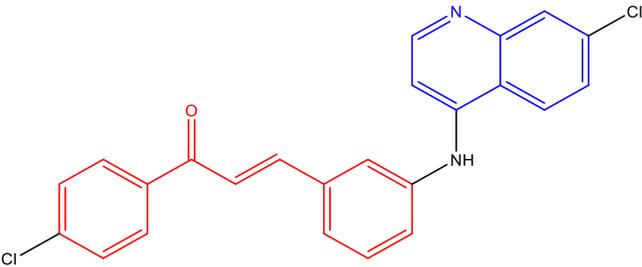
Los híbridos **(1c)** y **(2c)** tienen los núcleos químicos básicos, chalcona y quinolina (**Tabla 3**). Estas moléculas sufren diferentes hibridaciones para su posterior análisis anti-protozoario.

Los híbridos analizados, de quinolina - chalcona se obtuvieron mediante eterificación de Williamson haciendo uso de microondas, teniendo como reactivos los compuestos la bromoalquilquinolina 2-7 y la 3,4-dimetoxi-4'-hidroxicalcona. El compuesto **(1c)** se evaluó en viabilidad celular por medio de macrófagos humanos (células U-937) y en actividad antiparasitaria contra amastigotes intracelulares de *L. panamensis* y *T. cruzi*. Los valores obtenidos de citotoxicidad, actividad leishmanicida y actividad tripanocida fueron $LC_{50} = 5.4 \mu\text{g/mL}$, $EC_{50} = 6.11 \mu\text{g/mL}$, y $EC_{50} = 4.09 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. El compuesto **(1c)** mostró una mejor actividad antiparasitaria y menor toxicidad que el benznidazol.⁸²

Una serie de compuestos se evaluó frente a amastigotes intracelulares de *T. cruzi* (cepa Tulahuen) y en amastigotes intracelulares de *Leishmania panamensis*. El compuesto **(2c)** tuvo la mayor actividad contra *L. panamensis* con $EC_{50} = 0.79 \mu\text{g/mL}$ y estuvo cerca del compuesto más activo contra *T. cruzi*, con $EC_{50} = 0.72 \mu\text{g/mL}$. Los autores observaron que el 7-cloro-4-aminoquinolina le confiere actividad; cuando se dan cambios en este, la actividad se ve reducida.⁸³

Tabla 3. Híbridos quinolina-chalcona con actividad antiparasitaria.

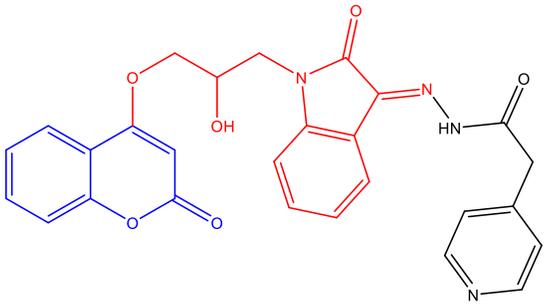
Compuesto	Estructura	Actividad
(1c)	 <p>(E)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-(4-(3-(quinolin-7-iloxi)propoxi)fenil)prop-2-en-1-ona</p>	<i>Leishmania panamensis</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>

(2c)	 <p>(E)-1-(4-clorofenil)-3-(3-((7-cloroquinolin-4-il)amino)fenil)prop-2-en-1-ona</p>	<p><i>Leishmania panamensis</i></p> <p><i>Trypanosoma cruzi</i></p>
------	--	---

2.2.1.3.4.2 Híbrido cumarina-isatina

El híbrido **(3c)** (Tabla 4) fue obtenido vía sintética, y está compuesto por una isatina hibridada con una cumarina. La hibridación se da teniendo como reactivos, hidroxi-cumarina y lepiclorhidrina, en una primera etapa; posteriormente es incorporada la isatina utilizando NaH y DMF. El compuesto se evaluó en promastigotes y amastigotes axénicos de *Leishmania tropica*, revelando valores de $IC_{50} = 0.10 \mu M$ y $IC_{50} = 0.87 \mu M$, respectivamente. Según los autores, los resultados obtenidos son acordes con los análisis computacionales, ya que muestra que el compuesto es estable e interacciona con el carbonilo de la Arg414, generando enlaces en el sitio activo de la enzima gp63.⁸⁴

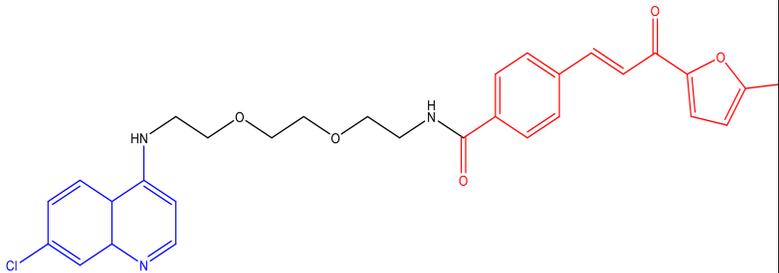
Tabla 4. Híbrido cumarina-isatina con actividad antiparasitaria.

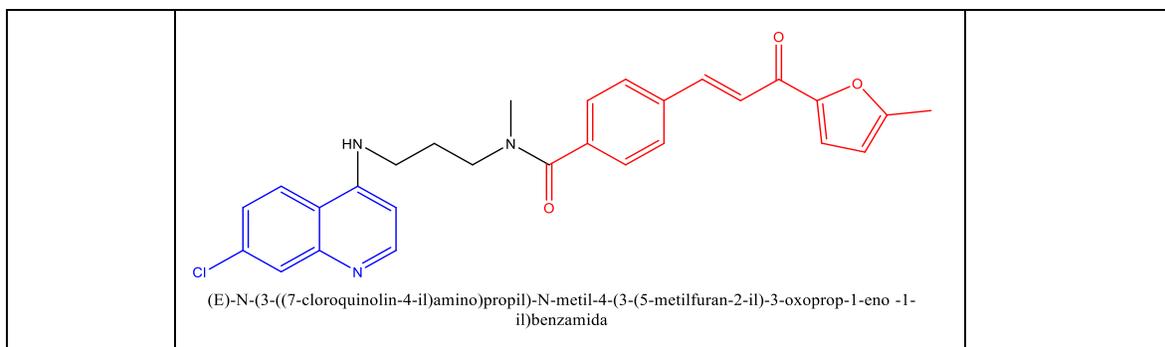
Compuesto	Estructura	Actividad
(3c)	 <p>(E)-N'-(1-(2-hidroxi-3-((2-oxo-2H-cromen-4-il)oxi)propil)-2-oxoindolin-3-ilideno)-2-(piridin-4-il)acetohidrazida</p>	<p><i>Leishmania tropica</i></p>

2.2.1.3.4.3 Híbridos aminoquinolina-chalcona

La formación de híbridos aminoquinolina-chalcona se llevó a cabo mediante la sustitución aromática nucleófila de la 4,7-dicloroquinolina, seguida de dos condensaciones en las cuales se destaca la reacción de Claisen-Schmidt. Así procedieron grosso modo los autores, para sintetizar los compuestos **(4c)** y **(5c)** (Tabla 5). Químicamente se destaca que estos híbridos aminoquinolina-chalcona contaron con una molécula conectora entre los dos farmacóforos, siendo así el N-metil-1,3-propilendiamina, para **(5c)** y con la 2,2-(etilendioxi) bis (etilamina), para **(4c)**. Estos híbridos se analizaron en dos especies de promastigotes de *Leishmania donovani* y *Leishmania major*. Los resultados de la hibridación fueron analizados con la cloroquina, molécula antiparasitaria con la cual comparten el farmacóforo de 7-cloroquinolina con los híbridos sintetizados. En este orden de ideas los autores obtuvieron un $IC_{50} = 7.18 \mu M$ para *L. donovani* y un $IC_{50} = 5.26 \mu M$ para *L. major*. Además, para el híbrido **(4c)** un $IC_{50} = 1,08 \mu M$ para *L. donovani* y un $IC_{50} = 1,14 \mu M$ para *L. major*, y para el híbrido **(5c)** un $IC_{50} = 1,07 \mu M$ para *L. donovani* y un $IC_{50} = 0,46 \mu M$ para *L. major*. Los híbridos al tener mejores actividades que la cloroquina, pero menores que la anfotericina B, fueron propuestos para el tratamiento de coinfecciones entre *Plasmodium* y *Leishmania*.⁸⁵

Tabla 5. Híbridos aminoquinolina-chalcona con actividad antiparasitaria.

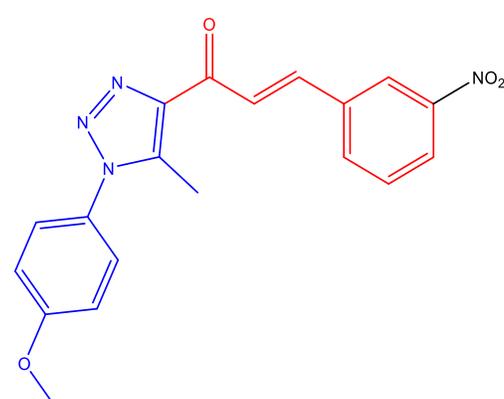
Compuesto	Estructura	Actividad
(4c) y (5c)	 <p>(E)-N-(2-(2-(2-((7-cloro-4a,8a-dihidroquinolin-4-il)amino)etoxi)etoxi)etil)-4-(3-(5-metilfurano-2-il)-3-oxoprop-1-en-1-il)benzamida</p>	<p><i>Leishmania donovani</i></p> <p><i>Leishmania major</i></p>



2.2.1.3.4.4 Híbrido triazol-chalcona

La generación del híbrido **(6c)** (Tabla 6), se llevó a cabo mediante la unión de una chalcona con un triazol; este último tomando el lugar del anillo A de la chalcona. Para la formación del híbrido final, partieron del reactivo *p*-anisidina e hicieron uso de las reacciones de Gorkushko y Claisen–Schmidt, entre otras. La evaluación antiparasitaria se realizó en promastigotes de *Leishmania mexicana* y la citotoxicidad en macrófagos. Los investigadores reportaron una actividad contra *L. mexicana* de $IC_{50} = 1.0 \mu M$ y una citotoxicidad de $CC_{50} = 3.6 \mu M$; un valor menor al control positivo (Anfotericina B, $CC_{50} > 5 \mu M$). Los autores proponen, respecto de los resultados obtenidos, que la posición *para* es menos activa que la posición *orto*.⁸⁶

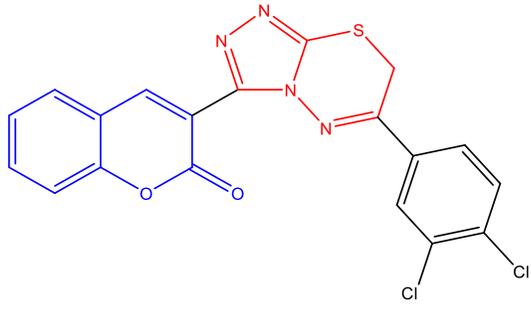
Tabla 6. Híbrido triazol-chalcona con actividad antiparasitaria.

Compuesto	Estructura	Actividad
(6c)	 <p>(E)-1-(1-(4-metoxifenil)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-il)-3-(3-nitrofenil)prop-2-en-1-ona</p>	<i>Leishmania mexicana</i>

2.2.1.3.4.5 Híbridos de cumarina-triazolotiadiazina

La formación de híbridos de cumarina-triazolotiadiazina se llevó haciendo uso de la reacción de ciclación con cumarino 4-amino-1, 2,4-triazol y de bromo-acetofenonas sustituidas. El híbrido **(7c)** (Tabla 7), fue evaluado *in vitro* en promastigotes de *Leishmania major*. Este híbrido obtuvo una inhibición de $IC_{50} = 0,89 \mu M$. A lo cual, aducen que la presencia de los cloros en posición 3 y 4 potencializa la acción antiparasitaria. Sin embargo, la presencia de un sólo cloro en posición *para*, reduce la actividad.⁸⁶

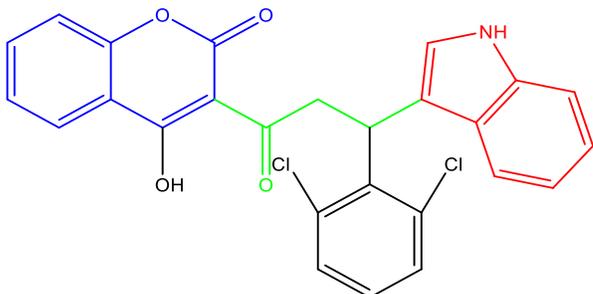
Tabla 7. Híbridos cumarina-triazolotiadiazina con actividad antiparasitaria.

Compuesto	Estructura	Actividad
(7c)	 <p>3-(6-(3,4-diclorofenil)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin-3-il)-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Leishmania major</i>

2.2.1.3.4.6 Híbridos de cumarina-Indolil

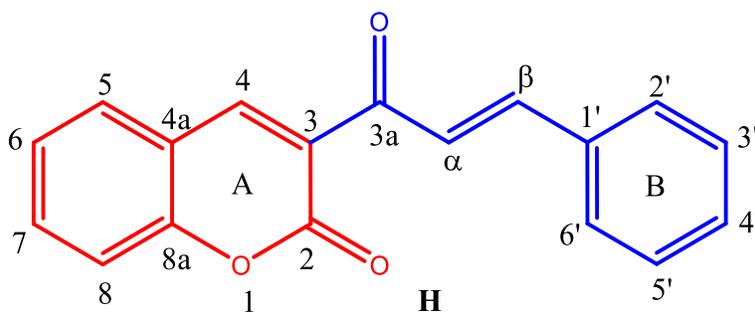
Esta clase de híbridos pueden ser formados por varios farmacóforos con el fin de optimizar la actividad biológica objetivo. Este es el caso del híbrido **(8c)** (tabla 8), en el cual se encuentra el núcleo de cumarina (azul), el núcleo del indol (rojo) y el núcleo de chalcona (verde), formado por la lactona (cumarina), por el heterociclo (indol) y conectado por la pentanona. La producción de **(8c)** parte desde la acetilación de la hidroxi-cumarina, para posteriormente formar el híbrido cumarina-chalcona; y para la última reacción, la adición del indol, usaron nanopartículas de $CoFe_2O_4$ dopadas con Ho^{3+} como catalizador. La evaluación de la actividad de este híbrido la realizaron en promastigotes de *Leishmania donovani* y obtuvieron un $IC_{50} = 95 \mu g/mL$, comparado con el control positivo (Estibogluconato de sodio) con un $IC_{50} = 490 \mu g/mL$. El docking molecular muestra que el híbrido **(8c)**, tiene varias interacciones con la enzima Pteridina reductasa, en las cuales se destacan un enlace de hidrogeno de la ASN147 con el grupo hidroxilo de la cumarina; y los átomos de cloro del fenilo tienen interacciones van der Waals con el aminoácido SER111. Según los autores esto explica la actividad encontrada de esta molécula.⁸⁷

Tabla 8. Híbrido cumarina-Indolil con actividad antiparasitaria.

Compuesto	Estructura	Actividad
(8c)	 <p>3-(3-(1H-indol-3-il)-3-fenilpropanoil)-4-hidroxi-2H-cromen-2-ona</p>	<i>Leishmania donovani</i>

2.2.1.3.4.7 Híbrido cumarina-chalcona

Las cumarinas y chalconas poseen una gran capacidad farmacológica (gran espectro de actividad, carácter natural y baja toxicidad) y por lo tanto, una alta probabilidad a la hibridación molecular, por el gran espectro de actividad, su carácter natural y baja toxicidad. Debido al gran potencial antiparasitario que han presentado las moléculas con estructuras de cumarinas y chalconas insertas, se han estudiado moléculas híbridas entre la cumarina y chalcona (ver **Figura 13**), teniendo la siguiente estructura base.^{88, 89}

**Figura 13.** Estructura química del híbrido (H) cumarina-chalcona.

2.2.1.3.4.7 Síntesis de híbridos cumarina-chalcona

La síntesis de este híbrido está dada mediante el uso de reacciones de condensación. La primera es la reacción de Knoevenagel, para formar la cumarina; y la segunda reacción es la de Claisen-Schmidt, con la cual se forma el híbrido mediante la formación de la chalcona. La sucesión de estas dos reacciones anteriormente mencionadas, son las más usadas, debido a la facilidad y practicidad sintética. La reacción de Knoevenagel y Claisen-Schmidt proporcionan unos buenos rendimientos entre 60% y 96%, como lo afirma Vazquez et al. 2015.⁸⁸ En varios procesos sintéticos se utiliza la reacción de Knoevenagel para la formación completa de la cumarina, como también la utilizaron Hu et al. 2022. Teniendo rendimientos de alrededor de 73%.⁸⁹

Otros investigadores tienen acceso al núcleo de la cumarina, no la sintetizan. En este caso, se realiza una reacción de acetilación en posición 3 del núcleo para posteriormente realizar la condensación de la reacción de Claisen-Schmidt y terminar así, la síntesis del híbrido.⁹⁰

La reacción de condensación de Claisen-Schmidt, por lo general se utiliza el reflujo y puede ser prolongado el tiempo de reacción. En este sentido se ha realizado una optimización haciendo uso de irradiación de microondas; reduciendo el tiempo de reacción y el uso de solventes.⁹¹

A continuación se hace la descripción de estas dos importantes reacciones:

2.2.1.3.4.7.1 La reacción de Knoevenagel

La reacción de condensación de Knoevenagel es una reacción orgánica nombrada así en honor de su descubridor el químico alemán Emil Knoevenagel.⁹² Y es considerada dentro de la química orgánica clásica como una modificación de la condensación aldólica. Una condensación de Knoevenagel es la adición nucleofílica de un compuesto activo de hidrógenos alfa a un grupo carbonílico seguido por una reacción de deshidratación en la cual una molécula de agua es eliminada (por lo tanto una condensación) (**Figura 14**). El producto es a menudo una alfa, enona beta conjugada.^{93,94}

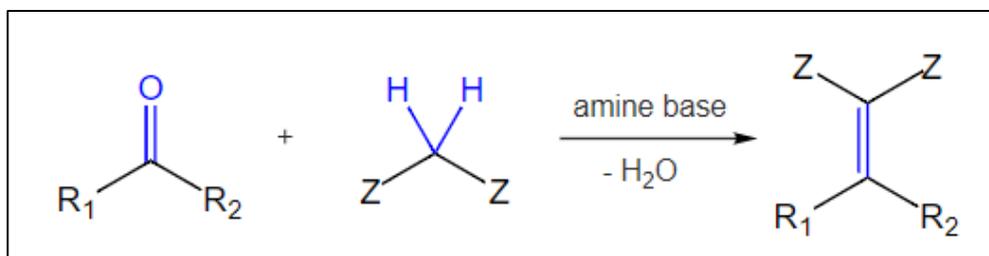


Figura 14. Esquema simplificado de la reacción de Knoevenagel.⁹⁵

En esta reacción el grupo carbonilo es un aldehído o una cetona. El catalizador es generalmente una amina básica débil.⁹⁶ El componente con el hidrógeno activo puede tener la forma Z-CH₂-Z o Z-CR-Z, por ejemplo dietil malonato ó acetoacetato de etilo. Z debe ser un grupo que permita fácilmente la abstracción del hidrógeno al ion enolato con una base suave.^{93,94}

2.2.1.3.4.7.2 La reacción de Claisen-Schmidt

La reacción de Claisen-Schmidt (reacción aldólica cruzada) es una reacción de condensación de aldehídos y compuestos carbonílicos que conducen a compuestos β-hidroxicarbonílicos (**Figura 15**) y ha desempeñado un papel importante en la química orgánica sintética.

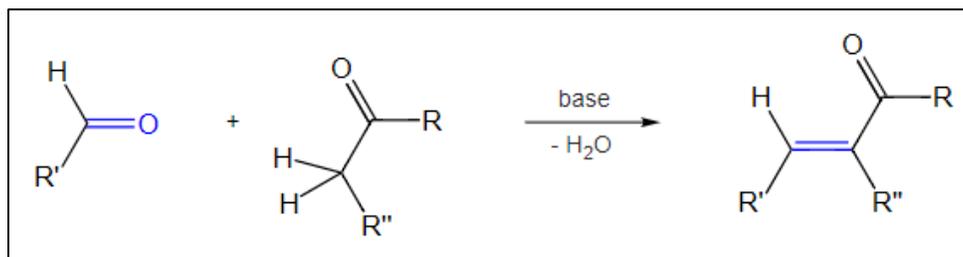


Figura 15. Esquema simplificado de la reacción Claisen-Schmidt.⁹⁷

Los aldehídos y las cetonas existen en dos formas isoméricas conocidas como tautómeros ceto y enol. Difieren en la ubicación de un átomo de hidrógeno y el tipo de doble enlace. La forma ceto es más estable que la forma enol. La tautomerización es un proceso neto por el cual los protones se transfieren de un sitio a otro mediante una serie de pasos en los que el solvente es un intermediario.⁹⁸

2.2.1.3.4.7.3 Actividad antiparasitaria

Los híbridos de cumarina-chalcona que cumplen con la estructura base mostrada en la **Figura 13**, han sido investigados en gran medida y se ha obtenido información sobre su capacidad antimicrobiana,⁹⁹ anticancerígena,¹⁰⁰ antioxidante¹⁰¹ y antiparasitaria. Se ha encontrado que las 3-cinamoil-4-hidroxi-2H-cromen-2-onas poseen buena actividad antimalaria y que podría ser contribuyente en la superación de la resistencia farmacológica.¹⁰²

De igual manera, se realizaron pruebas en epimastigote, tripomastigote y amastigote de *Trypanosoma cruzi* dando como resultado que varios híbridos de cumarina-chalcona poseen una actividad tripanocida importante o moderada. El híbrido formado, posee una sustitución de un grupo metoxi en la posición 3' de la **Figura 13**. Este híbrido analizado obtuvo valores de $IC_{50} = 2,6 \mu M$ y $2,9 \mu M$, en tripomastigote y amastigote, respectivamente. En comparación el Nifurtimox presentó $IC_{50} = 10 \mu M$ y $18,6 \mu M$. No obstante, La molécula mostró una citotoxicidad alta en las líneas celulares RAW 264.7 y VERO ^{88,103}

Recientemente, Cuellar et al.,(2022)¹⁰⁴ realizó la síntesis de los híbridos cumarina-chalcona haciendo uso de la reacción de Knoevenagel entre 2-hidroxibenzaldehído y acetoacetato de etilo, agregando gotas de piperidina a 0°C. Posteriormente, la reacción de Claisen-Schmidt se realizó con la mezcla de 3-acetil-2H-cromen-2-ona y derivados de benzaldehído, usando piperidina como catalizador, durante 30 min. Finalizada la reacción se cristalizó el precipitado en etanol:agua 1:1. La actividad biológica de los híbridos fue evaluada en amastigotes de *L. panamensis* y sobre *T. cruzi*; se obtuvieron valores de EC_{50} de 2.1 ± 0.1 y $18.7 \pm 2.4 \mu M$, respectivamente, para el híbrido sustituido en la posición C3' con un OH y en C4' con H. Por último, la actividad encontrada para *P. falciparum* fue de $15.0 \pm 0.5 \mu M$ (EC_{50}) cuando se empleó el híbrido con sustituciones O-etilo en C3' y OH en C4'. Los autores concluyen que los híbridos con patrones de sustitución correspondientes a donadores de electrones fueron más citotóxicos a células U-937 que los híbridos con grupos atractores de electrones. Además, indican que los grupos oxigenados en la posición C3' y C4' brindan una mejor capacidad inhibitoria en los parásitos analizados.

Teniendo en cuenta que los híbridos cumarina-chalcona pueden ser promisorios para el desarrollo de nuevas drogas terapéuticas contra agentes parasitarios; es relevante

investigar sobre el efecto que los sustituyentes en el anillo aromático de la cumarina pueden tener sobre la actividad antiparasitaria.

2.2.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

En el diseño o síntesis de compuestos con importancia farmacológica, es imprescindible buscar todo el conocimiento físico-químico de las moléculas de interés y sus características de comportamiento bajo sistemas biológicos. Lo cual proporciona explicaciones o relacionamiento frente a los resultados de actividad biológica obtenidos.^{105,106}

2.2.2.1 Descriptores moleculares

Los descriptores moleculares son el resultado final acorde a los cálculos matemáticos efectuados, haciendo uso de la transformación de la información química a valores numéricos, los cuales pueden ser interpretados de manera directa.

Los descriptores moleculares pueden ser de carácter topológico, geométrico, electrónico y de hibridación. Los descriptores topológicos van direccionados a la aplicación de teorías y conceptos químicos como lo pueden ser: recuento de átomos, peso molecular, índices de conectividad molecular.

Los descriptores electrónicos son las variables que resultan del efecto de los electrones, los cuales pueden ser la carga parcial, el momento bipolar, entre otros.

Los geométricos son características de la molécula que dependen de su formación 3D, tales como el área superficial, índice gravitacional, etc.^{107,108}

Los descriptores híbridos van relacionados a la existencia de moléculas responsables de interacciones intermoleculares polares o conocidos como área de superficie parcial cargada (CPSA). Estos descriptores ayudan a explicar la acción o el rol agonista y antagonista de varias o de una molécula bajo la cuantificación de parámetros como la electrofilicidad global, distancias interatómicas, cargas atómicas parciales, entre otros.¹⁰⁹

2.2.2.2 Parámetros Farmacocinéticos

En el diseño de nuevos compuestos químicos con potencial farmacéutico es importante evaluar sus características y parámetros físico-químicos, que son determinantes en el comportamiento molecular dentro del sistema biológico a evaluar. Por tal motivo es

indispensable conocer las variables de estudio cruciales para conocer las interacciones del fármaco en estudio y los componentes celulares.¹¹⁰

La farmacocinética estudia la *absorción, distribución y metabolismo* de un medicamento desde que ingresa al cuerpo hasta el punto que se desecha. Entre estos tres macroprocesos mencionados existen procesos puntuales y de gran trascendencia en la acción exitosa de un fármaco; se destaca la permeabilidad o difusión a través de las membranas lipídicas de las células.¹¹¹

En el diseño de moléculas con potencial medicinal a través de los años, se han llevado a cabo bajo el cumplimiento de los criterios de Lipinski, para así tener una biodisponibilidad del medicamento administrado por vía oral.

Un fármaco promisorio no debe cumplir los siguientes criterios según Lipinski:

1. No tener un peso molecular mayor a 500 Da.
2. No debe tener más de 10 aceptores de enlaces por puentes de hidrogeno (átomos de nitrógeno, oxígeno o flúor).
3. No debe tener un coeficiente de reparto octanol-agua (log P) superior a 5
4. No debe contener más de 5 donadores de enlaces por puentes de hidrogeno (átomos de nitrógeno u oxígeno con al menos un átomo de hidrógeno).¹¹²

Al transcurrir el tiempo otros autores han creado también algunos cambios que han entrado a reforzar los criterios de Lipinski; según Veber, et al.,(2002) postula que la molécula debe contener menos de 10 enlaces rotables y menos de 140 Angstroms de superficie de área polar. De igual manera postula frente a la relación con la disminución de los enlaces rotables, la superficie de área polar baja o el conteo de enlaces de hidrógeno, pueden tener una biodisponibilidad aceptable, sin cumplir el límite del peso molecular.¹¹³

3. HIPÓTESIS

Los híbridos de cumarinas y chalconas con diferente patrón de sustitución difieren en citotoxicidad y en la actividad antiparasitaria *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania braziliensis*.

4. OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la citotoxicidad, la actividad antiparasitaria y las características farmacocinéticas de híbridos cumarina-chalcona obtenidos por reacciones de condensación y caracterizados mediante técnicas espectroscópicas de IR, RMN, LC-MS.

Objetivos específicos:

Objetivo específico # 1.

Sintetizar series de híbridos cumarina-chalconas con diferente patrón de sustitución empleando reacciones de condensación (Knoevenagel y Claisen-Schmidt).

Objetivo específico # 2.

Identificar y caracterizar las moléculas híbridas mediante técnicas espectroscópicas como lo son IR, RMN y LC-MS.

Objetivo específico # 3.

Determinar y analizar los parámetros farmacocinéticos de los híbridos sintetizados con el fin de conocer sus características y capacidad de ser compuestos con uso farmacéutico.

Objetivo específico # 4.

Determinar la citotoxicidad y la actividad *in vitro* contra, *T. cruzi* y *L. braziliensis*; de los híbridos de cumarinas y chalconas obtenidos sintéticamente.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

3-anisaldehído (97%), 4-anisaldehído (99+%), 3-tolualdehído (98%), 3-nitrobenzaldehído (99%) y 3-bromobenzaldehído (96%) se adquirieron de Acros Organics (NJ, EE.UU.). 4-Diethylaminosalicylaldehyde (98%), 2-hidroxibenzaldehído, acetoacetato de etilo (99%), 4-hidroxibenzaldehído, 4-nitrobenzaldehído (98%), 4-clorobenzaldehído (97%), 4-bromobenzaldehído (99%), etil vainillina (98%), piperonal (99%) y piperidina ($\geq 99,5\%$) se adquirieron de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EE.UU.). El benzaldehído y el 4-hidroxibenzaldehído eran de Merck KGaA (Hohenbrunn, Alemania) y Aldrich Co. (Milwaukee, WI, EE.UU.), respectivamente.

5.2 Equipos analíticos

El avance de las reacciones se realizó mediante cromatografía en capa fina (TLC) en placas de gel de sílice con indicador de fluorescencia (0,25 mm, 60F₂₅₄, Merck, Darmstadt, Alemania) y los compuestos se visualizaron mediante exposición a UV (254/365 nm). Los puntos de fusión se midieron en un fusiómetro MEL-TEMP® (d: descomposición). Los espectros de infrarrojo (IR) fueron tomados en un espectrofotómetro Shimadzu Tracer – 100. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C se realizaron en un espectrómetro Bruker AMX300 (Bruker Bio-Spin GmbH, Rheinstetten, Alemania) que opera a 300 MHz para ¹H y 75 MHz para ¹³C. Las muestras se disolvieron en DMSO-*d*₆ o CDCl₃. Se utilizaron las siguientes abreviaturas para explicar las multiplicidades: s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuarteto, m = multiplete, b = ancho. Las constantes de acoplamiento (J) y desplazamientos químicos (δ) se expresaron en unidades Hz y ppm, respectivamente.

5.3 Metodología de síntesis

La estrategia sintética consistió (ver **Figura 16**) en la obtención del núcleo cumarina, con diferentes sustituyentes (N,N-dietilamino y metoxi) en la posición C7 (anillo aromático), mediante una reacción de condensación de Knoevenagel. Posteriormente, se efectuó el acoplamiento de aldehídos sustituidos mediante la condensación de Claisen-Schmidt para obtener varias series de híbridos cumarino-chalcona con diferente patrón de sustitución. El avance de las reacciones se realizó mediante cromatografía en capa fina (TLC); los híbridos sintetizados se purificaron por cromatografía en columna y se caracterizaron por la técnica espectroscópica de resonancia magnética nuclear e infrarrojo.

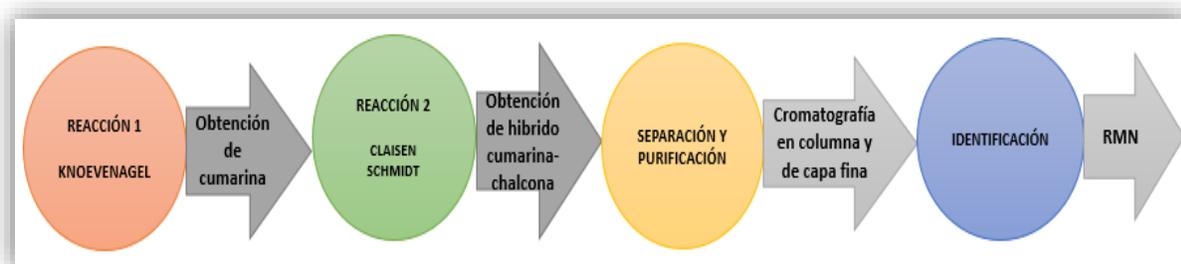


Figura 16. Secuencia de etapas para la obtención y caracterización de híbridos cumarina-chalcona.

5.3.1 Síntesis de 3-acetil-7-dietilamino-2H-cromen-2-ona (H_{10}) y 3-acetil-7-metoxi-2H-cromen-2-ona (H_{20})

Para la síntesis de las 3-acetil-2H-cromen-2-onas sustituidas en la posición C7 ($R_3 =$ dietilamino, metoxi), se partió de los salicilaldehídos correspondientes sustituidos en posición C4 (**Tabla 9**), y el acetoacetato de etilo (**Figura 17**).

Tabla 9. Salicilaldehídos sustituidos empleados para la síntesis de 3-acetil-2H-cromen-2-ona.

Compuesto	R_3
H_{10}	$-N(CH_2CH_3)_2$
H_{20}	$-OCH_3$

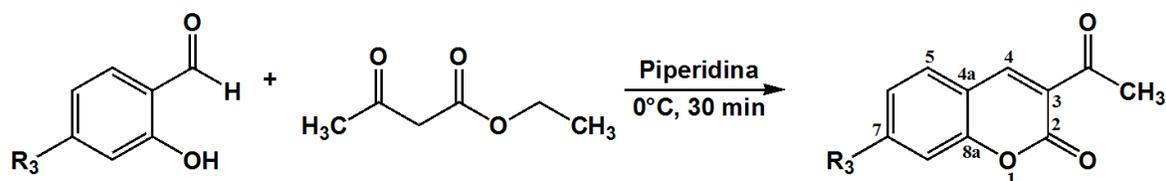


Figura 17. Reacción de Knoevenagel para la obtención de 3-acetil-2H-cromen-2-ona sustituidas.

En un baño con hielo, se agitó la mezcla de salicilaldehído sustituido (1 mmol) y acetoacetato de etilo (1mmol); seguidamente, se agregó gota a gota piperidina (~0,5 mL) y se dejó reaccionar por aproximadamente 30 minutos. Se observó la formación de una pasta amarilla; por último se agregó HCl 1.0 M (*Workup*), y se procedió al aislamiento y purificación mediante filtración del producto formado.⁵⁶

H₁₀: 3-acetil-7-dietilamino-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 98%. T_f=150-155°C. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 1712 (C=O), 1661 (C=C), 1565 (C=C), 1188 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.48 (1H, s, H4), 7.45 (1H, d, J = 9.0, H5), 6.67 (1H, dd, J = 2.1, J = 9.0, H6), 6.51 (1H, d, J = 2.1, H8) 3.53-3.46 (4H, c, J = 6.9, H7a), 2.72 (3H, s, H α), 1.31-1.26 (6H, t, J = 6.9, H7b). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 195.8 (C3a), 160.9 (C2), 158.8 (C8a), 153.0 (C7), 147.9 (C4), 132.0 (C3), 116.1 (C5), 109.9 (C6), 108.2 (C4a), 96.6 (C8), 45.2 (C7a), 30.8 (C α), 12.5 (C7b).

H₂₀: 3-acetil-7-metoxi-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 95.1%. T_f=182-184°C. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 1720 (C=O), 1677 (C=C), 1555 (C=CAr), 1267 (O-C=O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.50 (1H, s, H4), 7.36 (1H, m, H5), 7.28 (1H, m, H6), 7.08 (1H, d, J = 2.7, H8), 3.91 (3H, s, H7a), 2.77 (3H, s, H α). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 195.7 (C3a), 159.5 (C7), 156.4 (C2), 150.0 (C8a), 147.4 (C4), 124.6 (C3), 123.0 (C5), 118.6 (C6), 117.8 (C4a), 111.1 (C8), 55.9 (C7a), 30.7 (C α).

5.3.2 Síntesis de Híbridos (H₁₁-H₁₁₀) y (H₂₁-H₂₆)

Los híbridos cumarina-chalcona (ver **Figura 19**) se obtuvieron mediante reacción de las cumarinas sintetizadas anteriormente con varios benzaldehídos (**Figura 18**) en relación molar 1:1. La mezcla de reactantes se llevó a reflujo con *n*-butanol, piperidina (0,5 mL) e igual cantidad de ácido acético glacial. La reacción se dejó completar en un tiempo aproximado de 24 a 36 horas.¹¹⁴ Los híbridos obtenidos (**Tabla 10**) se purificaron algunos

mediante filtración (los híbridos con sustitución diferente a -H en C4') y el resto por cromatografía de columna, usando mezcla de diclorometano-metanol.

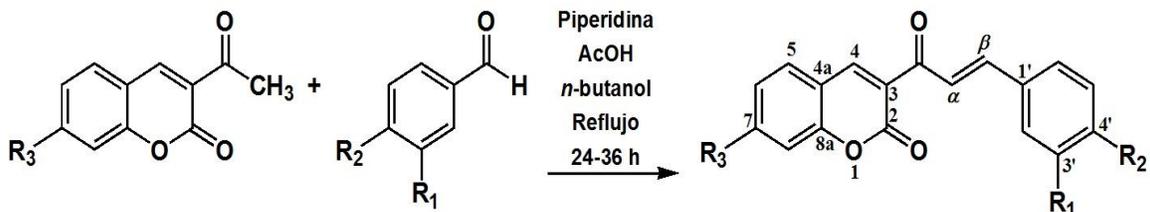


Figura 18. Reacción Claisen-Schmidt para la obtención de híbridos.

Tabla 10. Híbridos cumarina-chalcona obtenidos con diferente patrón de sustitución.

COMPUESTO	Sustituyentes		
	R ₁	R ₂	R ₃
H ₁₁	-H	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₂	-H	-OCH ₃	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₃	-CH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₄	-OCH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₅	-Br	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₆	-H	-Cl	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₇	-NO ₂	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₈	-H	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₉	-OCH ₂ O-		-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₁₁₀	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂
H ₂₁	-OCH ₃	-H	-OCH ₃
H ₂₂	-OCH ₂ O-		-OCH ₃
H ₂₃	-H	-OH	-OCH ₃
H ₂₄	-CH ₃	-H	-OCH ₃
H ₂₅	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-OCH ₃
H ₂₆	-H	-NO ₂	-OCH ₃

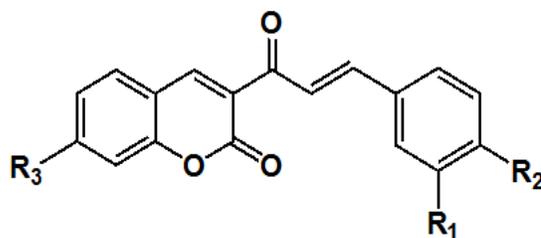


Figura 19. Híbrido y sustituciones.

H₁₁: 3-cinamoil-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 16.7%. T_f=153-155°C. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3088 (=C-H), 1704 (C=O), 1616 (C=C), 1559 (C=C_{Ar}), 1255 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.59 (1H, s, H₄), 8.22 (1H, d, *J* = 15.6, H β), 7.89 (1H, d, *J* = 15.6, H α), 7.74-7.70 (2H, m, H_{6'}, H_{2'}), 7.48 (1H, m, H₅), 7.45-7.41 (3H, m, H_{5'}, H_{4'}, H_{3'}), 6.69 (1H, dd, *J* = 9.0, *J* = 2.4, H₆), 6.54 (1H, d, *J* = 2.4, H₈), 3.51 (4H, c, H_{7a}), 1.28 (6H, t, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.6 (C_{3a}), 160.9 (C₂), 158.7 (C_{8a}), 152.9 (C₇), 148.8 (C₄), 143.4 (C β), 135.4 (C_{1'}), 131.9 (C₃), 130.3 (C₅), 128.8 (C_{2'}, C_{3'}, C_{4'}, C_{5'}, C_{6'}), 124.9 (C α), 110.1 (C₆), 108.8 (C_{4a}), 96.8 (C₈), 45.3 (C_{7a}), 12.5 (C_{7b}).

H₁₂: (E)-7-dietilamino-3-[3-(4-metoxifenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 46.7%. T_f =170-173°C. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3074 (=C-H), 1716 (C=O), 1616 (C=C), 1571 (C=C_{Ar}), 1257 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.60 (1H, s, H₄), 8.11 (1H, d, *J* = 15.6, H β), 7.89 (1H, d, *J* = 15.6, H α), 7.31 (2H, m, H_{6'}, H_{2'}), 7.50 (1H, d, *J* = 9.0, H₅), 6.96 (2H, m, H_{5'}, H_{3'}), 6.73 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.1, H₆), 6.58 (1H, d, *J* = 2.1, H₈), 3.91 (3H, s, -OMe), 3.52 (4H, c, H_{7a}), 1.29 (6H, t, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.5 (C_{3a}), 161.5 (C_{4'}), 160.9 (C₂), 158.5 (C_{8a}), 152.5 (C₇), 148.5 (C₄), 143.5 (C β), 131.8 (C₃), 130.6 (C_{6'}, C_{2'}), 128.2 (C₅), 122.6 (C_{1'}), 117.4 (C α), 114.3 (C_{3'}, C_{5'}), 110.3 (C₆), 109.1 (C_{4a}), 97.2 (C₈), 45.5 (C_{7a}), 12.4 (C_{7b}), 55.4 (-OMe).

H₁₃: (E)-7-dietilamino-3-[3-(*m*-tolil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 20.1%. T_f=105-110°C. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3031 (=C-H), 1716 (C=O), 1614 (C=C), 1573 (C=C_{Ar}), 1220 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.60 (1H, s, H₄), 8.21 (1H, d, *J* = 15.6, H β), 7.88 (1H, d, *J* = 15.6, H α), 7.55 (1H, m, H_{2'}), 7.51 (1H, m, H_{6'}), 7.49 (1H, d, *J* = 9.0, H₅), 7.36 (1H, m, H_{5'}), 7.25 (1H, m, H_{4'}), 6.69 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.4, H₆), 6.54 (1H, d, *J* = 2.4, H₈), 3.52 (4H, c, *J* = 7.2, H_{7a}), 2.43 (3H, s, -Me), 1.30 (6H, t, *J* = 7.2, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.7 (C_{3a}), 161.0 (C₂), 158.7 (C_{8a}), 153.0 (C₇), 148.8 (C₄), 143.6 (C β), 138.4 (C_{3'}), 135.3 (C_{1'}), 131.9 (C₃), 131.2 (C₅), 129.2 (C_{5'}), 128.7 (C_{4'}), 126.2 (C_{2'}), 124.7 (C_{6'}), 116.8 (C α), 109.9 (C₆), 108.7 (C_{4a}), 96.7 (C₈), 45.2 (C_{7a}), 12.5 (C_{7b}), 21.0 (-Me).

H₁₄: (E)-7-dietilamino-3-[3-(3-metoxifenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 18.9%. $T_f = 131-134^\circ\text{C}$. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3088 (=C-H), 1706 (C=O), 1618 (C=C), 1592 (C=C_{Ar}), 1567 (C=C_{Ar}), 1169 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.59 (1H, s, H₄), 8.20 (1H, d, $J = 15.6$, H β), 7.86 (1H, d, $J = 15.6$, H α), 7.49 (1H, d, $J = 9.0$, H₅), 7.36 (1H, m, H_{5'}), 7.31 (1H, m, H_{6'}), 7.23 (1H, m, H_{2'}), 6.98 (1H, m, H_{4'}), 6.68 (1H, dd, $J = 9.0$, $J = 2.4$, H₆), 6.53 (1H, d, $J = 2.4$, H₈), 3.90 (3H, s, -OMe), 3.52 (4H, c, H_{7a}), 1.29 (6H, t, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.6 (C_{3a}), 161.0 (C_{3'}), 159.8 (C₂), 158.8 (C_{8a}), 153.1 (C₇), 148.8 (C₄), 143.3 (C β), 136.8 (C_{1'}), 131.89 (C₃), 129.8 (C₅, C_{5'}), 125.2 (C α), 121.6 (C_{6'}), 116.3 (C_{4'}), 113.4 (C_{2'}), 110.0 (C₆), 108.7 (C_{4a}), 96.7 (C₈), 45.2 (C_{7a}), 12.5 (C_{7b}), 55.4 (-OMe).

H₁₅: (E)-3-[3-(3-bromofenil) acriloil]-7-dietilamino-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 15.3%. $T_f = 121-123^\circ\text{C}$. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3033 (=C-H), 1714 (C=O), 1614 (C=C), 1557 (C=C_{Ar}), 1220 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.60 (1H, s, H₄), 8.20 (1H, d, $J = 15.6$, H β), 7.79 (1H, d, $J = 15.6$, H α), 7.65 (1H, m, H_{6'}), 7.55 (1H, m, H_{2'}), 7.50 (1H, d, $J = 9.0$, H₅), 7.36 (1H, m, H_{4'}), 7.28 (1H, m, H_{5'}), 6.72 (1H, dd, $J = 9.0$, H₆), 6.57 (1H, d, $J = 9.0$, H₈), 3.50 (4H, c, $J = 7.2$, H_{7a}), 1.30 (6H, t, $J = 7.2$, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.3 (C_{3a}), 160.9 (C₂), 158.8 (C_{8a}), 152.9 (C₇), 149.0 (C₄), 141.5 (C β), 137.6 (C_{1'}), 133.0 (C₃), 132.0 (C_{2'}), 131.3 (C_{4'}), 129.5 (C₅), 129.2 (C_{5'}), 127.4 (C_{6'}), 126.2 (C α), 123.0 (C_{3'}), 110.3 (C₆), 108.9 (C_{4a}), 97.0 (C₈), 45.4 (C_{7a}), 12.5 (C_{7b}). HRMS: m/z calc. por C₂₂H₂₀BrNO₃ [M + H]⁺: 426.0699; encontrado: 426.0689.

H₁₆: (E)-3-[3-(4-clorofenil) acriloil]-7-dietilamino-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 26.3%. $T_f = 196-200^\circ\text{C}$. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3090 (=C-H), 1706 (C=O), 1594 (C=C), 1565 (C=C_{Ar}), 1253 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.60 (1H, s, H₄), 8.20 (1H, d, $J = 15.6$, H β), 7.83 (1H, d, $J = 15.6$, H α), 7.66 (2H, m, $J = 8.4$, H_{6'}, H_{2'}), 7.49 (1H, d, $J = 9.0$, H₅), 7.42 (2H, m, $J = 8.4$, H_{5'}, H_{3'}), 6.69 (1H, dd, $J = 9.0$, $J = 2.1$, H₆), 6.54 (1H, d, $J = 2.1$, H₈), 3.52 (4H, c, $J = 7.2$, H_{7a}), 1.29 (6H, t, $J = 7.2$, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.4 (C_{3a}), 161.0 (C₂), 158.8 (C_{8a}), 153.1 (C₇), 149.0 (C₄), 141.8 (C β), 136.0 (C₃), 134.0 (C_{4'}), 132.0 (C_{1'}), 129.9 (C_{6'}, C_{2'}), 129.1 (C_{3'}, C_{5'}), 125.5 (C α), 116.5 (C₅), 110.1 (C₆), 108.8 (C_{4a}), 96.7 (C₈), 45.3 (C_{7a}), 12.50 (C_{7b}).

H₁₇: (E)-7-dietilamino-3-[3-(3-nitrofenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 18.6%. T_f=214-217°C (d). Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3092 (=C-H), 1712 (C=O), 1604 (C=C), 1566 (C=C_{Ar}), 1502 (N=O), 1256 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.60 (1H, s, H₄), 8.50 (1H, m, H_{2'}), 8.31-8.25 (2H, m, H _{β} , H_{6'}), 8.05 (1H, m, H_{4'}), 7.87 (1H, d, J = 15.6, H _{α}), 7.62 (1H, t, J = 7.8, H_{5'}), 7.50 (1H, d, J = 9.0, H₅), 6.71 (1H, dd, J = 9.0, 1.8, H₆), 6.55 (1H, d, J = 1.8, H₈), 3.53 (4H, c, J = 7.2, H_{7a}), 1.30 (6H, t, J = 7.2, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.1 (C_{3a}), 160.0 (C₂), 158.9 (C_{8a}), 153.2 (C₇), 149.2 (C_{3'}), 148.7 (C₄), 140.0 (C _{β}), 137.3 (C_{1'}), 133.9 (C_{6'}), 132.11 (C₃), 129.8 (C₅), 127.8 (C_{5'}), 124.4 (C _{α}), 123.3 (C_{4'}), 116.1 (C_{2'}), 110.3 (C₆), 108.8 (C_{4a}), 96.8 (C₈), 45.4 (C_{7a}), 12.5 (C_{7b}). HRMS calc. por C₂₂H₂₀N₂O₅ [M - H]⁺: 393.1445; encontrado : 393.1431.

H₁₈: (E)-7-dietilamino-3-[3-(4-hidroxifenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 46.3%. T_f=260-262°C (d). Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3242 (O-H), 3022 (=C-H), 1686 (C=O), 1608 (C=C), 1574 (C=C_{Ar}), 1278 (C-O). ¹H-RMN (DMSO-d₆), δ : 8.54 (1H, s, H₄), 7.81 (1H, d, J = 15.6, H _{β}), 7.66-7.58 (2H, m, H _{α} , H₅), 7.58-7.55 (2H, m, H_{6'}, H_{2'}), 6.85-6.79 (2H, m, H_{5'}, H_{3'}), 6.78 (1H, m, H₆), 6.57 (1H, d, J = 1.8, H₈), 3.49 (4H, m, H_{7a}), 1.14 (6H, t, J = 6.9, H_{7b}). ¹³C-RMN (DMSO-d₆), δ : 185.8 (C_{3a}), 160.4 (C₂, C_{8a}, C_{4'}), 129.9 (C_{6'}, C_{2'}), 153.3 (C₇), 148.6 (C₄), 143.1 (C _{β}), 132.7 (C₃), 131.0 (C₅), 126.4 (C_{1'}), 122.0 (C _{α}), 116.4 (C_{3'}, C_{5'}), 110.6 (C₆), 108.3 (C_{4a}), 96.3 (C₈), 44.9 (C_{7a}), 12.8 (C_{7b}).

H₁₉: (E)-3-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acriloil)-7-dietilamino-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 91.3%. T_f=219-223°C (d). Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3092 (=C-H), 1716 (C=O), 1616 (C=C), 1584 (C=C_{Ar}), 1243 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.59 (1H, s, H₄), 8.07 (1H, d, J = 15.6, H _{β}), 7.82 (1H, d, J = 15.6, H _{α}), 7.48 (1H, d, J = 9.0, H₅), 7.31 (1H, m, H_{2'}), 7.21 (1H, m, H_{6'}), 6.88 (1H, m, H_{5'}), 6.67 (1H, dd, J = 9.0, J = 2.1, H₆), 6.54 (1H, d, J = 2.1, H₈), 6.06 (2H, s, -OCH₂O-), 3.52 (4H, c, H_{7a}), 1.29 (6H, t, H_{7b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.4 (C_{3a}), 158.7 (C₂), 157.5 (C_{8a}), 152.9 (C₇), 149.7 (C_{3'}), 148.7 (C_{4'}), 148.3 (C₄), 143.3 (C _{β}), 131.8 (C₃), 130.0 (C₅), 125.4 (C_{1'}), 123.1 (C _{α}), 116.9 (C_{6'}), 109.9 (C₆), 108.8 (C_{5'}), 108.6 (C_{4a}), 107.2 (C_{2'}), 101.6 (-OCH₂O-), 96.7 (C₈), 45.3 (C_{7a}), 12.50 (C_{7b}).

H₁₁₀: (E)-7-dietilamino-3-[3-(3-etoxi-4-hidroxifenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 20.8%. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3308 (O-H), 3031 (=C-H), 1716 (C=O), 1614 (C=C), 1567 (C=C_{Ar}), 1218 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.59 (1H, s, H₄), 8.06 (1H, d, *J* = 15.6, H β), 7.84 (1H, d, *J* = 15.6, H α), 7.48 (1H, d, *J* = 9.0, H₅), 7.31 (1H, m, H₂'), 7.26 (1H, m, H₆'), 6.99 (1H, d, *J* = 8.1, H₅'), 6.68 (1H, dd, *J* = 9.0, *J* = 2.1, H₆), 6.53 (1H, d, *J* = 2.1, H₈), 4.24 (2H, c, *J* = 6.9, H₃'a), 3.52 (4H, c, *J* = 7.2, H₇a), 1.52 (3H, t, *J* = 6.9, H₃'b), 1.29 (6H, t, *J* = 7.2, H₇b). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.4 (C_{3a}), 161.1 (C₂), 158.6 (C_{8a}), 152.9 (C₇), 148.6 (C₃'), 148.3 (C₄'), 146.1 (C₄), 143.9 (C β), 131.8 (C₃), 128.0 (C₅), 124.0 (C₁'), 122.5 (C α), 117.0 (C₆'), 114.6 (C₅'), 110.8 (C₂'), 109.9 (C₆), 108.7 (C_{4a}), 96.7 (C₈), 64.7 (C₃'a), 45.2 (C_{7a}), 14.8 (C₃'b), 12.50 (C_{7b}). HRMS calc. por C₂₄H₂₅NO₅ [M - H]⁻: 406.1659; encontrado : 406.0967.

H₂₁: (E)-7-metoxi-3-[3-(3-metoxifenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 50.6%. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3078 (=C-H), 1714 (C=O), 1600 (C=C), 1573 (C=C_{Ar}), 1255 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.57 (1H, s, H₄), 8.00 (1H, d, *J* = 15.6, H β), 7.89 (1H, d, *J* = 15.6, H α), 7.40-7.22 (5H, m, H₅, H₅', H₆', H₂', H₄'), 7.11 (1H, m, H₈), 7.02 (1H, m, H₆), 3.92 (6H, s, H_{7a}, -OMe). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.7 (C_{3a}), 159.9 (C₃'), 153.1 (C₇), 156.4 (C₂), 149.9 (C_{8a}), 148.0 (C₄), 145.0 (C β), 136.2 (C₁'), 129.9 (C₃), 125.5 (C₅), 124.3 (C₅'), 122.8 (C α), 121.7 (C₆'), 118.9 (C₄'), 117.8 (C₂'), 116.9 (C₆), 113.6 (C_{4a}), 111.0 (C₈), 56.0 (C_{7a}), 55.4 (-OMe).

H₂₂: (E)-3-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acriloil)-7-metoxi-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 53.1%. T_f = 232-236°C (d). Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3049 (=C-H), 1714 (C=O), 1653 (C=C), 1575 (C=C_{Ar}), 1249 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.58 (1H, s, H₄), 7.39-7.26 (5H, m, H₅', H₆', H₂', H β , H α), 7.22 (1H, d, *J* = 8.1, H₅), 7.11 (1H, d, *J* = 2.7, H₈), 6.90 (1H, dd, *J* = 8.1, *J* = 2.7, H₆), 6.06 (2H, s, -OCH₂O-), 3.92 (3H, s, H_{7a}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.4 (C_{3a}), 159.6 (C₇), 156.4 (C₂), 150.3 (C_{8a}), 149.9 (C₃'), 148.4 (C₄'), 147.3 (C₄), 145.0 (C β), 129.4 (C₃), 126.0 (C₅), 125.6 (C₁'), 122.7 (C α), 122.1 (C₆'), 118.9 (C₆), 117.8 (C_{4a}), 110.9 (C₅'), 108.7 (C₂'), 101.8 (OCH₂O), 101.7 (C₈), 56.0 (C_{7a}). HRMS calc. por C₂₀H₁₄O₆ [M - H]⁻: 351.0874; encontrado : 351.0835.

H₂₃: (E)-3-[3-(4-hidroxifenil) acriloil]-7-metoxi-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 48.8 %. T_f=288-292°C. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3280 (O-H), 3049 (=C-H), 1694 (C=O), 1651 (C=C), 1571 (C=C_{Ar}), 1285 (C-O). ¹H-RMN (DMSO-d₆), δ : 8.55 (1H, s, H₄), 7.71-7.59 (3H, m, H β , H_{6'}, H_{2'}), 7.48-7.41 (3H, m, H α , H₅, H₈), 7.34 (1H, m, H₆), 6.86 (2H, m, H_{5'}, H_{3'}), 3.49 (3H, m, H_{7a}). ¹³C-RMN (DMSO-d₆), δ : 187.6 (C_{3a}), 160.9 (C₇), 159.0 (C₂), 156.2 (C_{4'}), 149.3 (C_{8a}), 146.7 (C₄), 145.4 (C β), 131.4 (C_{6'}, C_{2'}), 126.5 (C₃), 126.0 (C₅), 122.3 (C_{1'}), 121.8 (C α), 119.3 (C₆), 117.8 (C_{4a}), 116.5 (C_{3'}, C_{5'}), 112.3 (C₈), 56.3 (C_{7a}).

H₂₄: (E)-7-metoxi-3-[3-(*m*-tolil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 38.9%. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3033 (=C-H), 1716 (C=O), 1651 (C=C), 1557 (C=C_{Ar}), 1220 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.55 (1H, s, H₄), 8.01 (1H, d, *J* = 15.6, H β), 7.91 (1H, d, *J* = 15.6, H α), 7.50 (1H, m, H_{6'}), 7.39-7.26 (5H, m, H₅, H_{5'}, H₆, H_{2'}, H_{4'}), 7.11 (1H, m, H₈), 3.92 (3H, s, H_{7a}), 2.44 (3H, s, -Me). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.7 (C_{3a}), 159.6 (C₇), 156.4 (C₂), 159.9 (C_{3'}), 149.9 (C_{8a}), 147.9 (C₄), 145.3 (C β), 138.6 (C_{1'}), 134.8 (C₃), 131.8 (C₅), 129.4 (C_{5'}), 128.8 (C_{4'}), 126.4 (C_{2'}), 123.8 (C_{6'}), 122.8 (C α), 118.9 (C_{4a}), 117.8 (C₆), 111.0 (C₈), 56.0 (C_{7a}), 21.4 (-Me). HRMS calc. por C₂₀H₁₆O₄ [M - H]⁺: 319.0964; encontrado : 319.5824.

H₂₅: (E)-3-[3-(3-etoxi-4-hidroxifenil) acriloil]-7-metoxi-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 19.1%. Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3033 (=C-H), 1714 (C=O), 1616 (C=C), 1559 (C=C_{Ar}), 1218 (C-O). ¹H-RMN (CDCl₃), δ : 8.57 (1H, s, H₄), 7.85 (1H, m, H_{2'}), 7.35-7.21 (5H, m, H₆, H_{6'}, H β , H α , H₅), 7.11 (1H, d, *J* = 3.0, H₈), 7.0 (1H, d, *J* = 8.1, H_{5'}), 4.24 (2H, c, *J* = 6.9, H_{3'a}), 3.92 (3H, s, H_{7a}), 1.53 (3H, t, *J* = 6.9, H_{3'b}). ¹³C-RMN (CDCl₃), δ : 186.4 (C_{3a}), 159.6 (C₇), 156.4 (C₂), 149.8 (C_{8a}), 148.8 (C_{3'}), 147.7 (C_{4'}), 146.1 (C₄), 145.6 (C β), 127.5 (C₃), 125.7 (C₅), 124.5 (C_{1'}), 122.6 (C α), 121.5 (C_{6'}), 119.0 (C_{5'}), 117.8 (C_{2'}), 114.8 (C₆), 110.9 (C_{4a}), 110.8 (C₈), 64.7 (C_{3'a}), 56.0 (C_{7a}), 14.8 (C_{3'b}). HRMS calc. por C₂₁H₁₈O₆ [M + H]⁺: 367.1176 ; encontrado : 368.4243.

H₂₆: (E)-7-metoxi-3-[3-(4-nitrofenil) acriloil]-2H-cromen-2-ona

Rendimiento: 89.5%. T_f=268-270°C (d). Señales características: IR $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3082 (=C-H), 1716 (C=O), 1661 (C=C), 1555 (C=C_{Ar}), 1508 (N=O), 1271 (C-O). ¹H-RMN (DMSO-d₆), δ : 8.67 (1H, s, H₄), 8.32 (2H, m, H_{5'}, H_{3'}), 8.04 (2H, m, H_{6'}, H_{2'}), 7.53-7.35 (5H, m, H β , H α ,

H5, H6, H8), 3.83 (3H, s, H7a). ¹³ C-RMN (DMSO-d6): δ: 187.7 (C3a), 168.3 (C7), 156.3 (C2), 150.4 (C8a), 148.7 (C4'), 147.1 (C4), 141.3 (C1'), 136.0 (Cβ), 130.1 (C6', C2'), 129.0 (C3), 125.8 (C5), 124.6 (C3', C5'), 122.8 (Cα), 119.8 (C6), 118.3 (C4a), 113.4 (C8), 56.3 (C7a).

5.4 Metodología de actividades biológicas

5.4.1. Citotoxicidad

En esta metodología se procedió haciendo uso del siguiente paso a paso.¹¹⁵ Células humanas U937 (ATCC CRL-1593.2) se cultivaron previamente en RPMI-1640 enriquecido con suero bovino fetal al 10% (FBS) y penicilina-estreptomomicina al 1% en una concentración de 10⁴ células/100 μL. Luego, los híbridos se evaluaron en diferentes concentraciones (200, 50, 12.5, 3.1, 0.8 y 0.2 μg/mL) y las células se incubaron a 37°C con 5% de CO₂. Después de 72 horas, el efecto citotóxico se determinó agregando 20 μL/pocillo de solución de MTT [Bromuro de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (0.5 mg/mL) e incubando a 37°C durante 3 horas. La reacción se detuvo con 100 μL/pocillo de isopropanol (50%) y dodecilsulfato de sodio (10%), y la producción de formazan se cuantificó mediante la lectura a 570 nm en un espectrofluorímetro. Se utilizó Doxorubicina como control de viabilidad (control positivo). Las determinaciones se realizaron por triplicado en al menos dos experimentos independientes. Los resultados se expresaron como la concentración letal media (LC₅₀), que corresponde a la concentración requerida para matar el 50% de las células; ¹¹⁵ donde compuestos con LC₅₀ < 100 μM fueron considerados como potencialmente citotóxicos, con 100 ≤ LC₅₀ < 200 μM como medianamente citotóxicos y con ≥ 200 μM como potencialmente no tóxicos. ¹¹⁶

5.4.2 Actividad *in vitro* contra *T. cruzi*

La actividad antitripanosómica de los compuestos se evaluó en amastigotes intracelulares de *T. cruzi* (cepa de Tulahuen transfectada con el gen de la β-galactosidasa). Los parásitos se cultivaron como epimastigotes en cultivo a 26°C durante 10 días. Luego las células U-

937 con una densidad de 2.5×10^4 células/100 μL en RPMI-1640 y PMA $0.16 \mu\text{M}$ se dispensaron en una microplaca de 96 pocillos y luego se infectaron con epimastigotes de *T. cruzi* en una proporción de parásito por célula de 5:1. Se incubaron durante 24 horas a 37°C , 5% de CO_2 en RPMI con 10% de FBS. Los parásitos no internalizados se eliminan mediante dos lavados con PBS y luego, se añadió medio fresco que contenía cada una de las seis concentraciones diluidas en serie de cada híbrido (200, 50, 12.5, 3.1, 0.8 y $0.2 \mu\text{g/mL}$). Después de 72 horas de incubación a 37°C con 5% de CO_2 , se determinó el efecto de todos los compuestos sobre la viabilidad intracelular de amastigotes midiendo colorimétricamente la actividad de la β -galactosidasa. Para ello se añadió a cada pocillo CPRG a $100 \mu\text{M}$ y nonidet P-40 al 0.1% y las placas se incubaron durante 4 horas a 37°C , en condiciones biológicas estándar, protegidas de la luz. Se utilizó Benznidazol como control positivo. Por último, la intensidad del color se midió a 570 nm en un espectrofotómetro.¹¹⁷ Los resultados se reportaron como la concentración efectiva media (CE_{50}), la cual se define como la concentración del compuesto que decrece los parásitos intracelulares en un 50%. Compuestos con $\text{EC}_{50} \leq 25 \mu\text{M}$ fueron considerados altamente activos; con $25 \mu\text{M} \leq \text{EC}_{50} < 100 \mu\text{M}$, moderadamente activos; y $\text{EC}_{50} > 100 \mu\text{M}$, con baja actividad.¹¹⁶

5.4.3 Actividad *in vitro* contra *L. braziliensis*

Los macrófagos humanos U-937 se cultivaron en RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 10% y se colocaron en una placa de 24 pocillos (1×10^5 células/pocillo) en medio RPMI 1640 (Sigma) suplementado con FCS al 10% (Cultilab) y penicilina al 1%-estreptomycin (Sigma). Después de la incubación a 37°C durante 72 horas, las células se infectaron con promastigotes de *L. braziliensis* (relación parásito:célula 15:1) y se incubaron a 34°C durante 2 horas. Los pocillos se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS), se añadió medio fresco, y las placas se incubaron de nuevo en las mismas condiciones durante 24 horas. Los compuestos se añadieron a concentraciones de 6.25–50 $\mu\text{g/mL}$ en conjuntos de experimentos por sextuplicado. Se usaron células infectadas no tratadas y anfotericina B (Sigma) como control negativo y positivo, respectivamente. Las células se incubaron a 34°C en CO_2 al 5% durante 48 horas, se fijaron con metanol y se tiñeron con Giemsa. El porcentaje de macrófagos infectados y el número total de amastigotes se determinaron contando seis veces 200 células. Se utilizó una curva de regresión dosis-respuesta no lineal para calcular la concentración media efectiva (EC_{50})

utilizando el análisis Probit. Los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar (DE).¹¹⁸ Compuestos con $EC_{50} \leq 25 \mu\text{M}$ fueron considerados altamente activos; con $25 \mu\text{M} \leq EC_{50} < 100 \mu\text{M}$, moderadamente activos; y $EC_{50} > 100 \mu\text{M}$, con baja actividad.¹¹⁶

5.5 Metodología de parámetros farmacocinéticos

Para consultar los parámetros farmacocinéticos de los híbridos sintetizados, se utilizó el software en línea SWISSADME con el objetivo de estimar siete descriptores fisicoquímicos y farmacocinéticos relacionados con el desarrollo de fármacos y la compatibilidad con la química medicinal. Las propiedades analizadas incluyen el número de enlaces rotables, los grupos donante-aceptor, el área de superficie polar topológica (TPSA), la regla de Lipinski, el índice de lipofilia log P (coeficiente de participación de octanol/agua).¹¹⁹

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla 11** se consignan los híbridos sintetizados con relación a los usos o investigaciones que se han realizado. Lo cual, no indica que los híbridos **H₁₅**, **H₁₇**, **H₁₁₀**, **H₂₂**, **H₂₄** y **H₂₅** son híbridos nuevos y no se habían sintetizado antes. Los resultados de LC-MS se adjuntan en ANEXOS.

Tabla 11. Usos de híbridos cumarina-chalcona.

Compuesto	Sustituyentes			Evaluación
	R ₁	R ₂	R ₃	
H₁₁	H	H	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad contra <i>Plasmodium falciparum</i> ¹²⁰
H₁₂	H	OCH ₃	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad fluorimétrica ¹²¹
H₁₃	CH ₃	H	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad anticáncer ¹¹⁴
H₁₄	OCH ₃	H	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad anticáncer ¹¹⁴
H₁₅	Br	H	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Nuevo
H₁₆	H	Cl	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad contra <i>Plasmodium falciparum</i> ¹²⁰
H₁₇	NO ₂	H	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Nuevo
H₁₈	H	OH	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad contra <i>Plasmodium falciparum</i> ¹²⁰
H₁₉	OCH ₂ O		N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Actividad fluorimétrica ¹²²
H₁₁₀	OCH ₂ CH ₃	OH	N(CH ₂) ₂ (CH ₃) ₂	Nuevo
H₂₁	OCH ₃	H	OCH ₃	Actividad neuroprotectora ¹²³

H₂₂	OCH ₂ O	OCH ₃	Nuevo
H₂₃	H	OH	OCH ₃ Actividad neuroprotectora ¹²³
H₂₄	CH ₃	H	OCH ₃ Nuevo
H₂₅	OCH ₂ CH ₃	OH	OCH ₃ Nuevo
H₂₆	H	NO ₂	OCH ₃ Actividad fluorimetrica ¹²⁴

5.4.1. Síntesis de los híbridos cumarina-chalcona

Las 3-acetilcumarinas **H₁₀** y **H₂₀** se obtuvieron mediante la reacción de Knoevenagel con rendimientos de 98.0 y 95.1%, respectivamente (**Tabla 12**).

Tabla 12. Eficiencia (%) de los productos de reacción.

Compuesto	Sustituyentes			Eficiencia (%) Final
	R ₁ (<i>meta</i> -)	R ₂ (<i>para</i> -)	R ₃	
H₁₀	—	—	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	98.0
H₁₁	-H	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	18.5
H₁₂	-H	-OCH ₃	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	45.8
H₁₃	-CH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	19.7
H₁₄	-OCH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	16.4
H₁₅	-Br	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	15.0
H₁₆	-H	-Cl	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	25.8
H₁₇	-NO ₂	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	18.2
H₁₈	-H	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	45.4
H₁₉	-OCH ₂ O-		-N(CH ₂ CH ₃) ₂	91.3
H₁₁₀	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	20.4
H₂₀	—	—	-OCH ₃	95.1
H₂₁	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	48.1
H₂₂	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	53.0
H₂₃	-H	-OH	-OCH ₃	46.4
H₂₄	-CH ₃	-H	-OCH ₃	37.0
H₂₅	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-OCH ₃	18.2
H₂₆	-H	-NO ₂	-OCH ₃	85.1

La preparación de los híbridos **H₁₁-H₁₁₀** y **H₂₁-H₂₆** presentó rendimientos variables entre 89.5 y 15.3% (**Tabla 12**). Los rendimientos más altos se presentaron para los híbridos sustituidos en C4'; los cuales, además, mostraron una mejor cristalización (cristales de mayor tamaño que se formaban rápidamente) facilitando y haciendo más eficiente el proceso de filtración. En contraste, los otros híbridos demandaron para su purificación el uso de cromatografía de columna, reduciéndose la eficiencia del proceso. La reacción de Claisen-Schmidt es evidenciada por la formación del doble enlace C-C en el sistema cinamoil. En el espectro IR, el sistema carbonílico α,β -insaturado presentó una serie de bandas con un patrón complejo correspondiente a estiramientos C=O y C=C a frecuencias de 1706, 1620, 1590, y 1579 cm^{-1} (**Figura 25**).

La identidad de los compuestos se corroboró mediante los espectros de IR, ^1H - y ^{13}C -RMN. Los datos espectroscópicos muestran señales características, que ayudan a la identificación del núcleo 3-acetilcumarina. El espectro IR muestra bandas de estiramiento C=O a frecuencias de 1720 cm^{-1} , y estiramientos C=C de olefina y anillo aromático entre 1600 y 1500 cm^{-1} (**Figura 21**) (**Figura 25**). El grupo sustituyente *N,N*-dietil en posición C7 (presente en **H₁₀**, Figura 2-5) mostró dos señales a campos altos tanto en ^1H - y ^{13}C -RMN: un triplete en δ_{H} : 1.31-1.14 ppm y δ_{C} : 12.8-12.4 ppm correspondiente al grupo metil; y un cuarteto con δ_{H} : 3.53-3.51 ppm y δ_{C} : 45.5-44.9 ppm del grupo metileno (**Figura 22**). Para el grupo metoxi en C7 (presente en **H₂₀**) se observó un singlete en δ_{H} : 3.92-3.49 ppm y δ_{C} : 56.3-56.0 ppm. La señal del protón H4, perteneciente al anillo lactona característico de las cumarinas, se observó como singlete a δ_{H} : 8.67-8.48 ppm. En ^{13}C -RMN (**Figura 23**), el carbono C4 se encontró a δ_{C} : 149.0-146.1 ppm. La aparición de las señales del protón H4 y del carbono C4 a campos bajos concuerda con el desapantallamiento ocasionado por la conjugación de la posición β , con el grupo carbonilo de la lactona. La presencia del grupo acetil en C3, se confirmó por la señal en δ_{H} : 2.7 ppm y δ_{C} : 30.7 ppm para **H₁₀** y δ_{H} : 2.8 ppm y δ_{C} : 30.7 ppm para **H₂₀**, del grupo metilo (**Anexo-figura.31**). Los grupos carbonilo de la lactona (éster) y el sustituyente 3-acetil (cetona) se detectaron respectivamente en δ_{C} : 161.0 y 195.9 ppm para **H₁₀** y δ_{C} : 159.5 y 195.7 ppm para **H₂₀** (**Anexo-figura.32**).

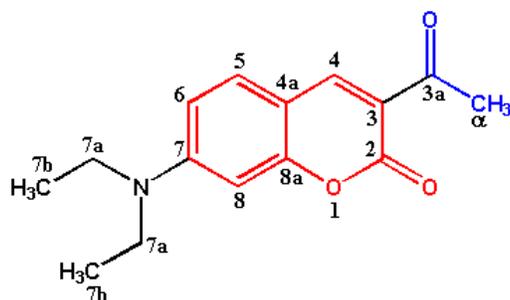


Figura 20. Estructura del compuesto 3-acetil-7-diethylamino cumarina (H_{10}).

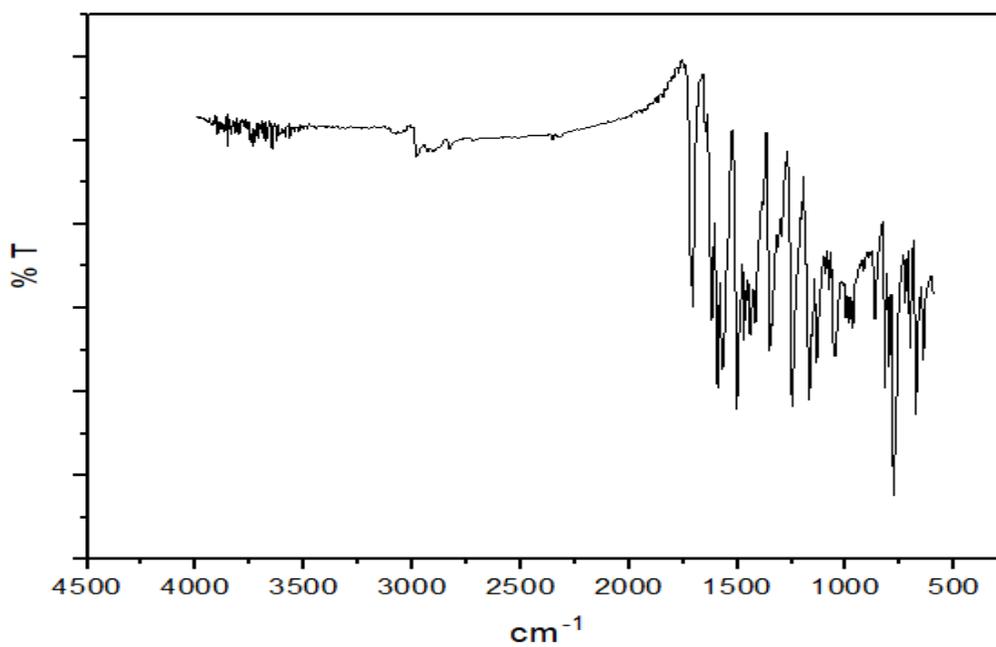


Figura 21. Espectro IR del compuesto H_{10}

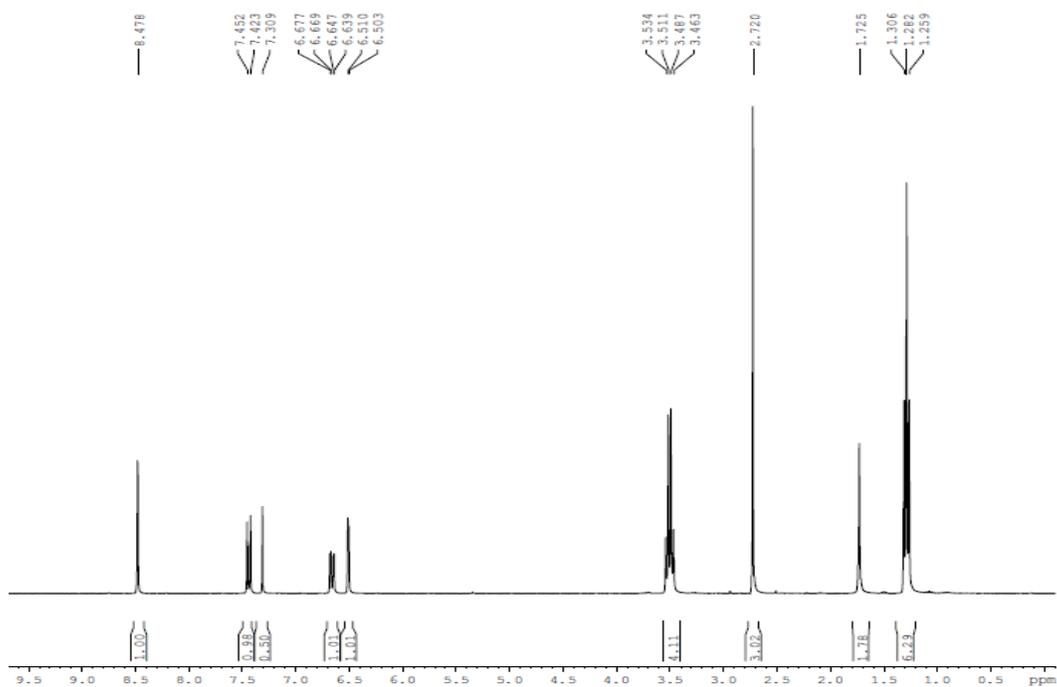


Figura 22. Espectro de 1H RMN del compuesto H₁₀

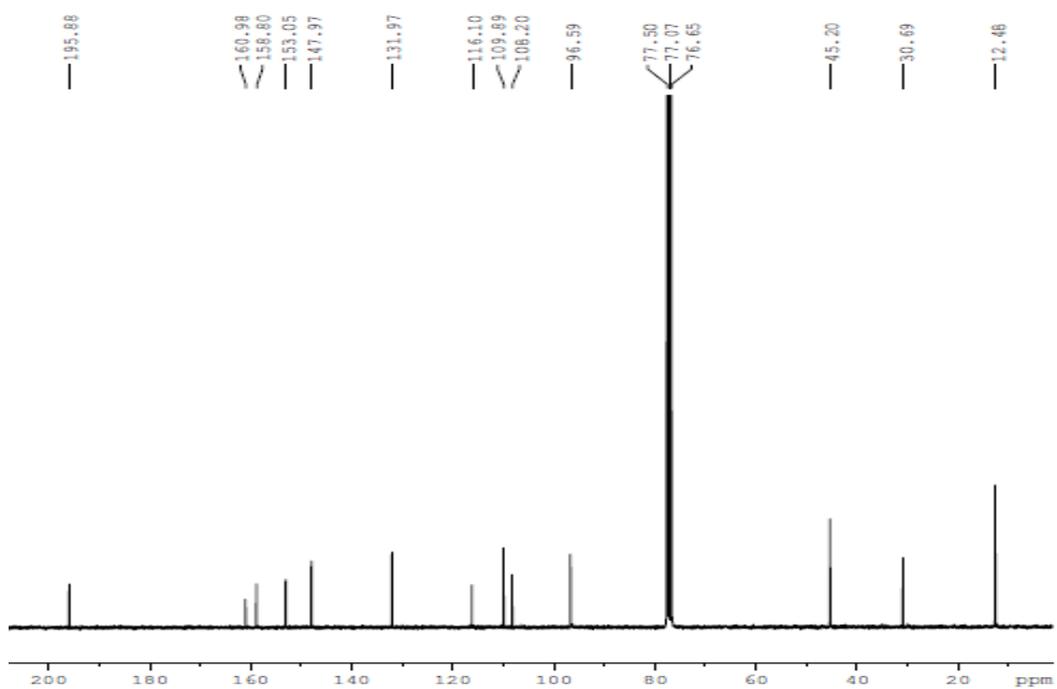


Figura 23. Espectro de ¹³C RMN del compuesto H₁₀

En los espectros de RMN de los híbridos (**Figura 24**), el doble enlace C-C del sistema carbonílico α,β -insaturado se evidenció como dos dobletes a campos bajos, $\delta_{H\beta}$: 8.20-7.81 ppm y $\delta_{H\alpha}$: 7.91-7.79 ppm (**Figura 26**); este desplazamiento químico es consecuente con el desapantallamiento de $H\beta$ y $H\alpha$ como resultado de la conjugación del doble enlace C-C con el grupo carbonilo, siendo mayor para la posición β . Las señales de $H\alpha$ y $H\beta$ poseen una constante de acoplamiento $J = 15.6$ Hz (**Figura 26**), característico de un enlace con geometría *trans*. Los carbonos $C\beta$ y $C\alpha$ se ubican en la región de 140.0-145.6 ppm y 126.2-116.8 ppm (**Figura 27**), respectivamente. Los carbonos carbonílicos C2 (de ester) y C3a (de cetona conjugada) se ubican entre δ_c : 161.1-156.4 ppm y δ_c : 195.8-186.1 ppm, respectivamente (**Figura 27**). Los anillos aromáticos de los núcleos cumarina y chalcona 3'-sustituída se observan como un sistema de espines AMX. Para la chalcona 4'-sustituída el patrón de señales corresponde a un sistema de espines AA'-BB'. Los espectros de 1H y ^{13}C -RMN de los híbridos difieren solamente en el patrón de sustitución del anillo B y el sustituyente en C7.

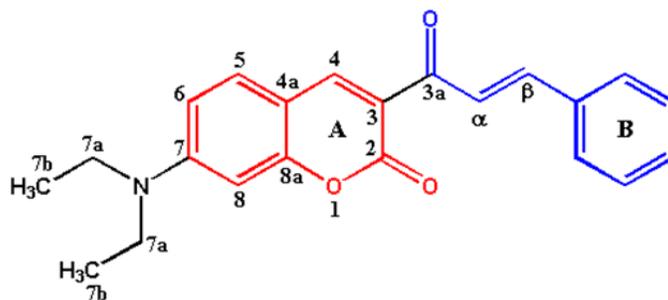


Figura 24. Estructura del compuesto (*E*)-3-cinamoil-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona (H₁₁)

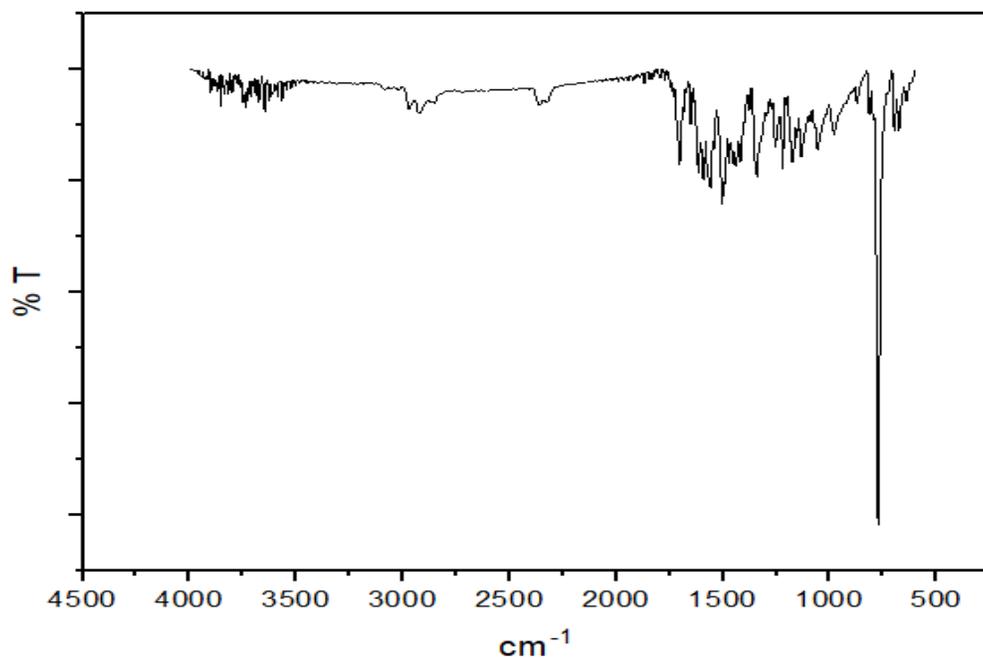


Figura 25. Espectro IR del compuesto H₁₁

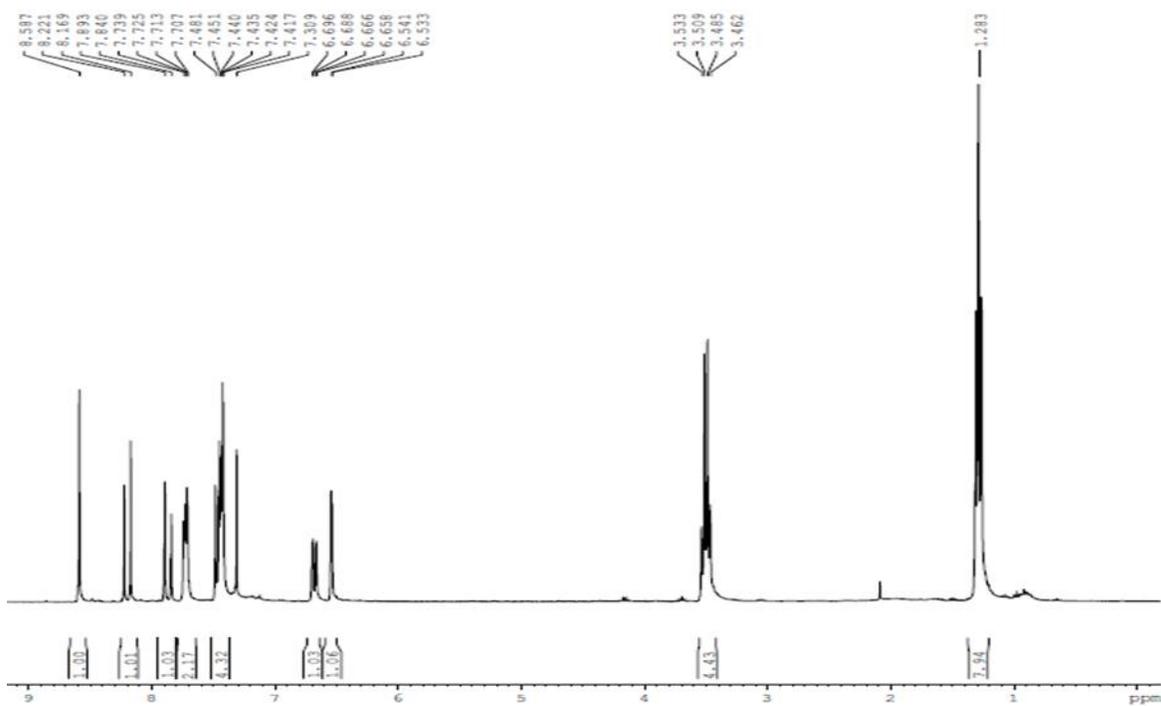


Figura 26. Espectro de ¹H RMN del compuesto H₁₁

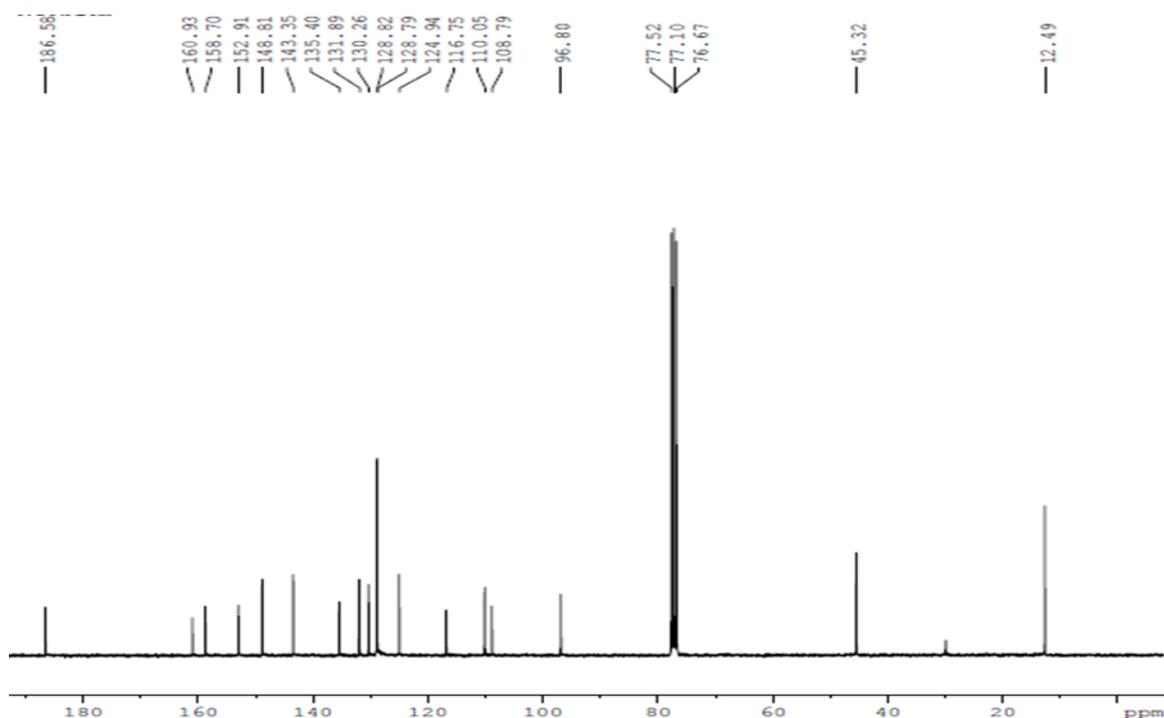


Figura 27. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H₁₁

5.4.2. Actividad biológica

Todos los compuestos sintetizados fueron evaluados mediante metodologías *in vitro* contra parásitos causantes de las enfermedades de chagas y leishmania. Además, se determinó la citotoxicidad con el fin de establecer los índices de selectividad de cada híbrido

5.4.2.1. Actividad citotóxica

Los resultados de citotoxicidad para los compuestos se presentan en la **Tabla 13**.

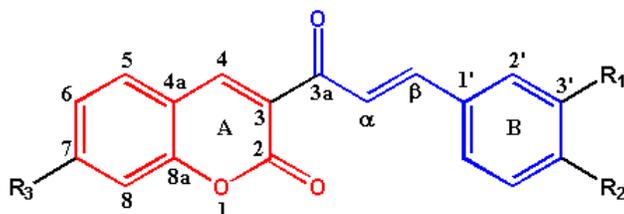


Tabla 13. Actividad citotóxica *in vitro* de los híbridos cumarina-chalcona.

Compuesto	Sustituyentes			Citotoxicidad (U937)
	R ₁	R ₂	R ₃	CL ₅₀ (μM)
H ₁₀	—	—	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200

(Cumarina)				
H₁₁	-H	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	92.1
H₁₂	-H	-OCH ₃	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	139.7
H₁₃	-CH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₁₄	-OCH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₁₅	-Br	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	174.7
H₁₆	-H	-Cl	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₁₇	-NO ₂	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₁₈	-H	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₁₉	-OCH ₂ O-		-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₁₁₀	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	>200
H₂₀ (Cumarina)	—	—	-OCH ₃	168.0
H₂₁	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	>200
H₂₂	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	>200
H₂₃	-H	-OH	-OCH ₃	>200
H₂₄	-CH ₃	-H	-OCH ₃	99.4
H₂₅	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-OCH ₃	39.2
H₂₆	-H	-NO ₂	-OCH ₃	>200
Control Doxorrubicina				0.9

La citotoxicidad se midió sobre macrófagos (línea celular U-937). La doxorrubicina, un fármaco ampliamente utilizado en la quimioterapia del cáncer, se empleó como control positivo, con una CL₅₀ de 0.9 µM. En general, los híbridos cumarina-chalcona presentaron una baja citotoxicidad sobre macrófagos (línea celular U-937). La citotoxicidad de los híbridos osciló entre 39.2 ± 1.5 µM y >200 µM. La mayoría de los compuestos evaluados presentó valores de CL₅₀ superiores a 200 µM; siete de los cuales corresponden a la serie 7-dietilamino y 4 a la serie 7-metoxi. En el núcleo cinamoil, para ambas series, los sustituyentes metilendioxi (**H₁₉**, **H₂₂**), 3'-metoxi (**H₁₄**, **H₂₁**) y nitro (**H₁₇** y **H₂₆**) presentaron una baja citotoxicidad (>200 µM).

Las mayores citotoxicidades en la serie 7-dietilamino, las presentaron los híbridos **H₁₁** (CL₅₀ = 92.1 ± 9.8 µM), **H₁₂** (CL₅₀ = 139.7 ± 29.1 µM), y **H₁₅** (CL₅₀ = 174.7±19.3 µM). En los derivados 7-metoxi, los híbridos más citotóxicos fueron **H₂₅** (CL₅₀ = 39.2 ±1.5 µM) y **H₂₄** (CL₅₀ = 99.4 ± 12.9 µM). Interesantemente, a pesar de que los híbridos **H₁₃** (CL₅₀ > 200 µM) y **H₂₄** (CL₅₀ = 99.4 ± 12.9 µM) poseen los mismos sustituyentes en 3' y 4', al igual que **H₁₁₀** (CL₅₀ > 200 µM) y **H₂₅**, son los derivados de la serie 7-dietilamino los menos citotóxicos. Es importante mencionar que la inserción de cualquier sustituyente en el anillo bencénico del

sistema cinamoil resultó en una marcada reducción de la citotoxicidad. En particular, los grupos atractores de electrones, como el grupo $-\text{NO}_2$, mostraron la menor citotoxicidad, un resultado similar fue reportado por Cuellar et al (2022). El híbrido **H₂₅** presentó la mayor citotoxicidad contra las células U-937, aunque mucho menor que la del compuesto de referencia, Doxorubicina.

Resulta importante remarcar que los híbridos con sustituyentes 7-dietilamino y 7-metoxi, presentaron menor citotoxicidad que los híbridos no sustituidos (**R₃** = -H), de acuerdo con lo reportado por Cuellar et al. (2022), lo que indica que el patrón de sustitución en la posición 7 de la cumarina afectó significativamente la citotoxicidad del híbrido; con los resultados obtenidos en el presente trabajo se podría establecer que es posible disminuir la citotoxicidad de los híbridos con cambios estructurales en la porción de la cumarina. En términos generales, el 65% de los compuestos sintetizados presentó una baja citotoxicidad, indicando que los híbridos cumarina-chalcona sustituidos en la posición 7, son promisorios para los estudios de actividad antiparasitaria.

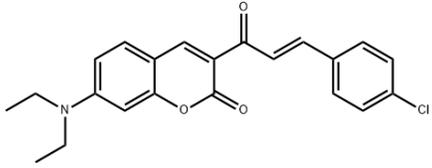
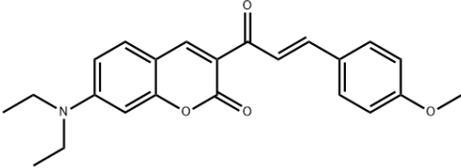
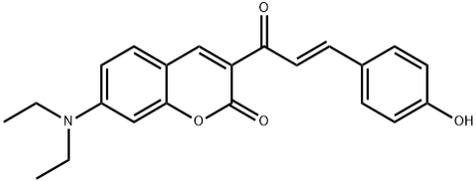
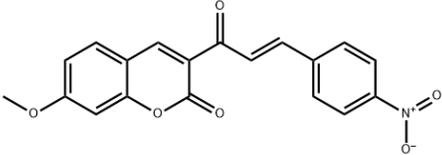
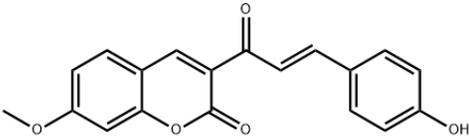
5.4.2.2. Actividad antitripanosomal

Los híbridos se evaluaron en amastigotes intracelulares de *Trypanosoma cruzi*; el Benznidazol se utilizó como control positivo, con una $\text{CL}_{50} > 200 \mu\text{M}$ y una CE_{50} de $12.9 \pm 0.5 \mu\text{M}$. Las evaluaciones *in vitro* de los híbridos arrojaron un rango de valores de CE_{50} entre 13.2 ± 0.6 y $55.8 \pm 6.0 \mu\text{M}$.

En la **tabla 14** se muestran las sustituciones en C4' de los híbridos sintetizados. Se observa que grupos donadores fuertes de electrones no favorece la actividad antiparasitaria con ninguna de las dos sustituciones en C7 (**H₁₈** y **H₂₃**). De igual manera, el híbrido de dietilamino con sustitución de un grupo atractor suave (**H₁₆**). De la serie con el grupo metoxi en C7, se puede observar que la presencia que favorece la actividad es del grupo atractor (NO_2). El híbrido con mayor actividad, es el sustituido en C7 con el grupo dietilamino y en C4' con un grupo donador de electrones moderado ($-\text{OCH}_3$), acercándose casi al doble de la actividad del control positivo.

Tabla 14. Actividad antitripanosomal de híbridos sustituidos en posición C4'.

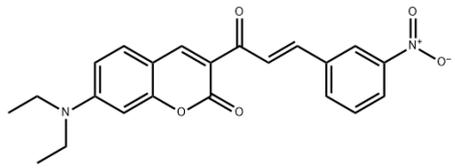
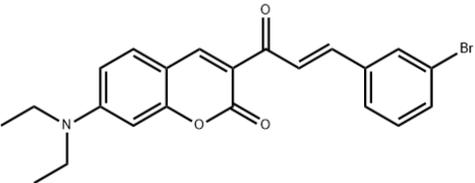
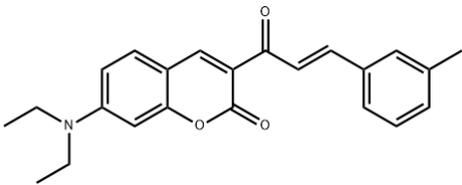
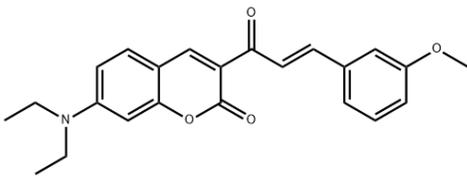
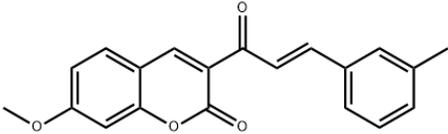
Compuesto	Molécula	EC_{50} Anti-Tripanosomal (μM)

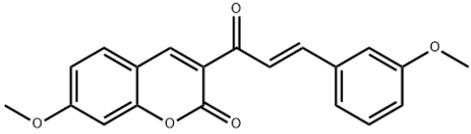
H₁₆		55.8 ± 6.0
H₁₂		27.5 ± 0.8
H₁₈		40.5 ± 5.7
H₂₆		32.6 ± 5.1
H₂₃		43.4 ± 8.6
Control Beznidazol		12.9 ± 0.5

De los híbridos sustituidos en C3' mostrados en la **tabla 15**, se destacan los híbridos con mejor actividad antiparasitaria de las dos series sintetizadas, los que poseen un grupo donador débil de carácter alquilo (-CH₃), en dicha posición (**H₁₃** y **H₂₄**). Para los híbridos de la primera serie, si en C3' se usan sustituyentes de grupos atractores (-NO₂ y -Br) (**H₁₇** y **H₁₅**) la actividad se verá reducida. De igual manera ocurre si se aumenta la capacidad donadora en C3' usando un grupo O-alquilo (**H₁₄**) con el híbrido de la primera serie. Mientras que en la segunda serie, el uso de un grupo O-alquilo (**H₂₄**) tiene la actividad en un valor cercano, al doble del control positivo; la actividad mejora levemente comparando con **H₂₄**

con el uso de un alquilo (-CH₃) acercándose más al doble del valor obtenido con benznidazol (H₂₄).

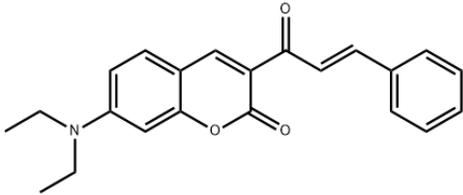
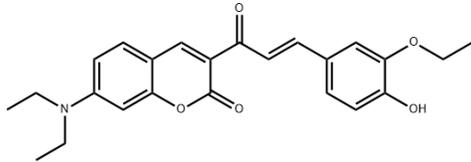
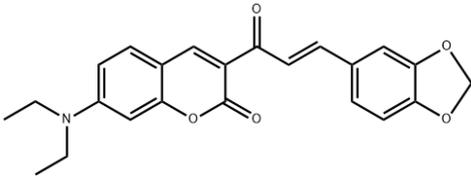
Tabla 15. Actividad antitripanosomal de híbridos sustituidos en posición C3'.

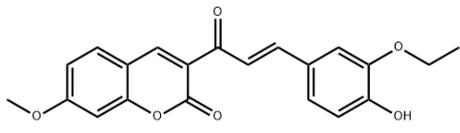
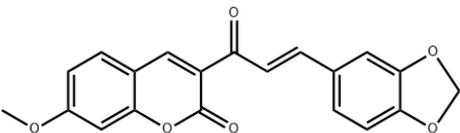
Compuesto	Molécula	EC ₅₀ Anti-Tripanosomal (μM)
H ₁₇		34.2 ± 5.7
H ₁₅		33.4 ± 5.0
H ₁₃		27.2 ± 0.7
H ₁₄		45.9 ± 8.2
H ₂₄		27.7 ± 1.1

H₂₁		29.7 ± 1.5
Control Beznidazol		12.9 ± 0.5

En **tabla 16** se muestran los híbridos con sustituciones en C3' y C4', se puede ver que a medida que la capacidad donadora de electrones se aumenta en los híbridos de la serie de dietilamino, la actividad antiparasitaria se ve reducida (**H₁₁**, **H₁₁₀**); entre **H₁₁₀** y **H₁₉** se da una disminución en un margen pequeño, se podría explicar debido a la poca diferencia donadora que puede existir entre estas dos moléculas. En la serie con un grupo metoxi en C7, se presume la disminución leve de la capacidad donadora y el tamaño en del sustituyente en C7, aumenta la actividad antiparasitaria, obtenido así el mejor resultado antitripanosomal (**H₂₅**), el cual, es incluso muy similar al control positivo.

Tabla 16. Actividad antitripanosomal de híbridos sustituidos en posición C3' y C4'.

Compuesto	Molécula	EC₅₀ Anti-Tripanosomal (μM)
H₁₁		30.2 ± 4.2
H₁₁₀		37.3 ± 5.0
H₁₉		36.4 ± 3.3

H₂₅		13.2 ± 0.4
H₂₂		49.6 ± 4.8
Control Beznidazol		12.9 ± 0.5

Los resultados se presentan concentrados en la **Tabla 17**, se consignan la actividad antitripanosomal, los diferentes sustituyentes de cada híbrido y el índice de selectividad.

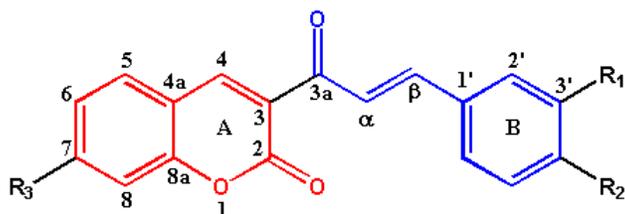


Tabla 17. Actividad antitripanosomal *in vitro* de los híbridos cumarina-chalcona.

Compuesto	Sustituyentes			Anti-tripanosomal <i>T. cruzi</i>	
	R ₁	R ₂	R ₃	CE ₅₀ (μM)	IS
H₁₀ (Cumarina)	—	—	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	35.2±3.7	>5.7
H₁₁	-H	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	30.2 ± 4.2	3.1
H₁₂	-H	-OCH ₃	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	27.5 ± 0.8	5.1
H₁₃	-CH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	27.2 ± 0.7	5.1
H₁₄	-OCH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	45.9 ± 8.2	>4.4
H₁₅	-Br	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	33.4 ± 5.0	5.2
H₁₆	-H	-Cl	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	55.8 ± 6.0	>3.6
H₁₇	-NO ₂	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	34.2 ± 5.7	>5.8
H₁₈	-H	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	40.5 ± 5.7	>4.9
H₁₉	-OCH ₂ O-		-N(CH ₂ CH ₃) ₂	36.4 ± 3.3	>5.5
H₁₁₀	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	37.3 ± 5.0	>5.4
H₂₀ (Cumarina)	—	—	-OCH ₃	28.1 ± 0.3	6.0
H₂₁	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	29.7 ± 1.5	>6.7
H₂₂	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	49.6 ± 4.8	>4.0

H₂₃	-H	-OH	-OCH ₃	43.4 ± 8.6	>4.6
H₂₄	-CH ₃	-H	-OCH ₃	27.7 ± 1.1	3.6
H₂₅	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-OCH ₃	13.2 ± 0.4	3.0
H₂₆	-H	-NO ₂	-OCH ₃	32.6 ± 5.1	>6.1
Control Benznidazol				12.9 ± 0.5	>11.6

En conclusión, se destacan 4 híbridos (**H₁₂**, **H₁₃**, **H₂₄**, **H₂₁**) con sustituciones en C3' y C4' de carácter metilo y metoxilo en el anillo B de la chalcona, estos obtuvieron un CE₅₀ que es aproximadamente el doble del control positivo. El núcleo de cumarina **H₂₀** es el más activo con respecto al otro núcleo, teniendo un valor de CE₅₀ de 28.1±0.3, aproximadamente el doble del control positivo (Benznidazol).

Cinco de los híbridos sintetizados en el presente trabajo exhibieron mayor actividad contra *T. cruzi* que el más activo de los híbridos descritos por Cuellar et al. (2022), y todos los híbridos sustituidos en C7 presentaron mayor índice de selectividad (menor toxicidad contra células U937). La actividad tripanosómica del híbrido (**H₁₂**) (EC₅₀=27.5±0.8 μM) resultó mejorada en un factor de 11 veces con respecto a lo reportado por Cuellar et al. (2022) (EC₅₀=326.8±0.1 μM). Tanto el sustituyente metoxi como el dietilamino son grupos donadores de electrones, lo que incrementa el carácter nucleofílico del núcleo cumarina, sugiriendo la influencia de factores electrónicos en la actividad biológica de los híbridos. Según Robledo et al. (2017), la actividad inhibitoria del crecimiento de *T. cruzi* se ve mejorada cuando en la posición C7 del núcleo cumarina existe un grupo donador de electrones (-OH, -OR, -NR₂)¹²⁵.

Sorprendentemente, el híbrido **H₂₅** exhibió una actividad antitripanosómica con un CE₅₀ de 13.2±0.4 μM, cercano al presentado por el antiparasitario Benznidazol. Los demás híbridos presentaron una actividad antitripanosómica 2 o 3 veces menor que la de **H₂₅**. Se presume que la actividad inhibitoria del híbrido **H₂₅** está mediada por las sustituciones oxigenadas (-OH y -OR) en posiciones C7, C2' y C3'. Según Gaban et al. (2015), la presencia de cadenas con carácter O-alquilo y de otro grupo funcional adyacente, son características que ayudan a potenciar la actividad inhibitoria de los protozoos; debido al aumento de la permeabilidad de la membrana celular de la célula infectada y del parásito⁷⁷.

Los relacionamientos de estructura y actividad nos sugieren finalmente, para tener una molécula con mejor actividad tripanocida basados en un núcleo cumarina-chalcona y con sustituyentes en C7, C3' y C4' se muestra en la **figura 28**.

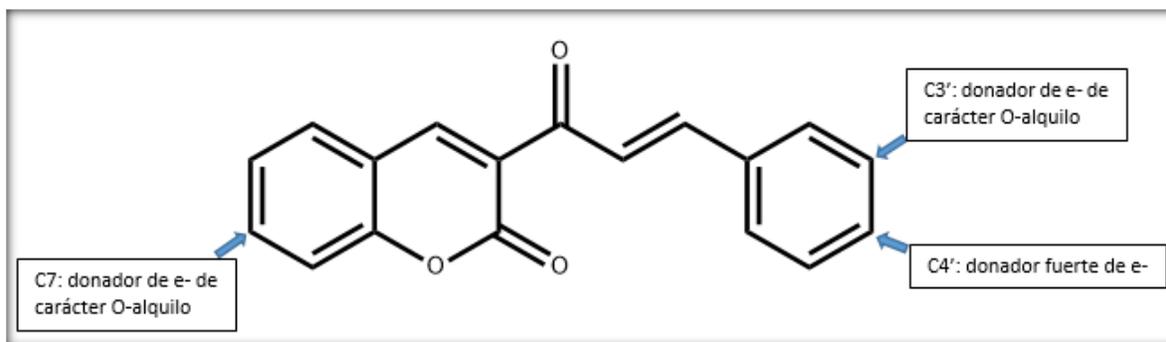


Figura 28. Estructura base de híbrido cumarina-chalcona para obtener buena actividad antiparasitaria.

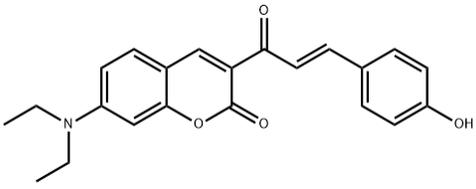
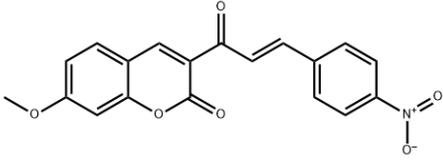
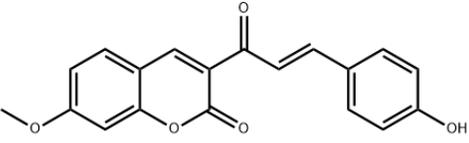
5.4.2.3. Actividad antileishmanial

La actividad antileishmanial se evaluó *in vitro* en promastigotes de *L. braziliensis* (Tabla 21). La anfotericina B fue utilizada como control positivo, obteniendo una $CL_{50}=52.5 \pm 8 \mu\text{M}$ y una EC_{50} de $0.32 \pm 0.02 \mu\text{M}$.

En la **tabla 18** se muestra la actividad de los híbridos sustituidos en C4'. Teniendo en cuenta los híbridos con las dos sustituciones en C7, se observa que las sustitución en C4' con grupos con atractores fuertes (NO_2) y suaves (Cl), poseen actividades bajas (**H₁₆** y **H₂₆**) respecto a los otros resultados. La actividad antileishmanicida en la primera serie se ve mejorada si se utiliza un grupo donador de electrones ($-\text{OCH}_3$) con capacidad moderada en C4' (**H₁₂**). En los híbridos con metoxi en C7 se evidencia que favorece la actividad la presencia de un donador de electrones ($-\text{OH}$) (**H₂₃**).

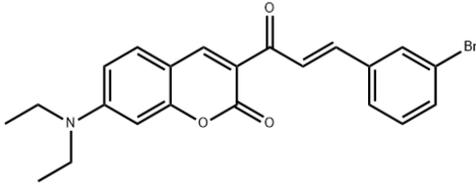
Tabla 18. Actividad antileishmanicida de híbridos sustituidos en posición C4'.

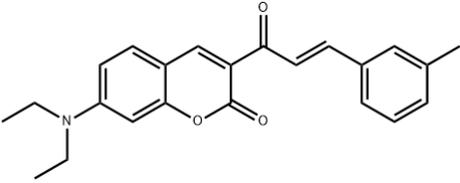
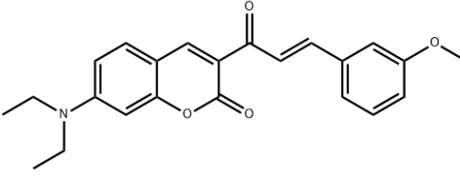
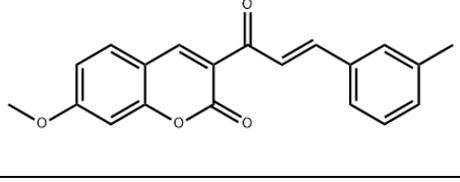
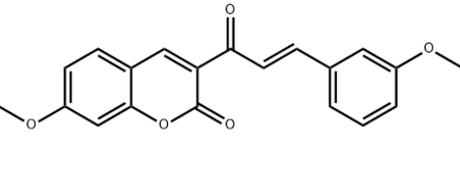
Compuesto	Molécula	Antileishmanial EC_{50} (μM)
H₁₆		45.2 ± 5.1
H₁₂		25.6 ± 0.4

H₁₈		58.1±8.8
H₂₆		43.2±6.6
H₂₃		38.5±0.6
Control Anfotericina B		0.3±0.02

Los híbridos sustituidos en posición C3' se muestran en la **tabla 19**, allí se consignan sus valores de actividades, son resultados muy similares entre ellos, las dos series se observan donadores de capacidad baja y media (-CH₃ y -OCH₃). A diferencia del híbrido (**H₁₆**) que posee (Br), este híbrido tiene levemente un mejor resultado de actividad. Se podría deducir que al aumentar la capacidad donadora la actividad leishmanicida se ve afectada levemente, en los híbridos de la primera serie (**H₁₅**, **H₁₃**, **H₁₄**). En los híbridos de la segunda serie, ocurre lo contrario levemente (**H₂₄** y **H₂₁**).

Tabla 19. Actividad antileishmanicida de híbridos sustituidos en posición C3'.

Compuesto	Molécula	Antileishmanial EC ₅₀ (µM)
H₁₅		27.4±0.9

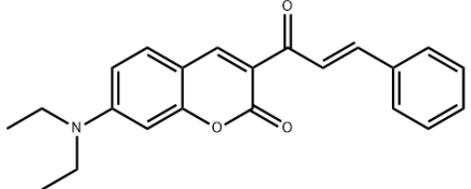
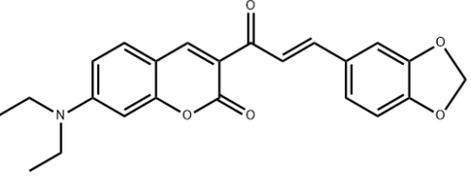
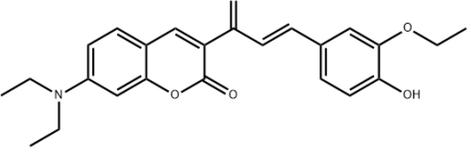
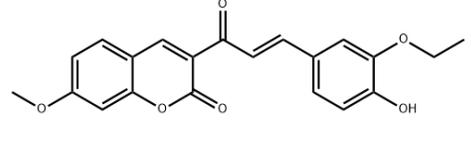
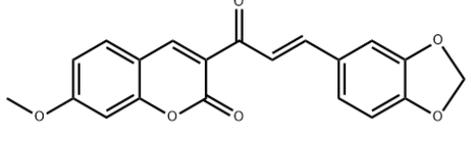
H₁₃		29.3±4.3
H₁₄		30.8±6.5
H₂₄		31.5±4.5
H₂₁		29.8±1.0
Control Anfotericina B		0.3±0.02

En la **tabla 20** se muestran los híbridos con sustituciones en C3' y C4'. Los híbridos con la sustitución dietilamino en C7 y las sustituciones en C3' y C4' donadoras de electrones (-OCH₂O-, -OH y -OCH₂CH₃) poseen una actividad baja (**H₁₉** y **H₁₁₀**) con una leve diferencia entre ellos. Por otra parte, los híbridos con la sustitución metoxi en C7, la actividad aumenta considerablemente cuando se disminuye el tamaño y la reactividad del núcleo de cumarina pasando de N,N-dietilamina a -OCH₃ de **H₁₁₀** a **H₂₅**. El segundo mejor resultado es obtenido en la primera serie, donde -H esta en C3' y C4' (**H₁₁**), indicándonos que para esta serie, es conveniente en alguna medida, no usar grupos activantes en las dos posiciones del anillo B de la chalcona.

En conclusión, la mejor actividad antileismanicida se obtiene con sustituciones en C7 y C3' de grupos donadores de electrones de carácter O-alquilo y en C4' con un grupo con mayor capacidad donadora de electrones (-OH). Lo cual nos indica, el mejor funcionamiento de

los híbridos con un donador de electrones moderado y de menor tamaño en C7, como lo sugieren también los resultados entre los núcleos de cumarina **H₁₀** y **H₂₀** mostrados en la **tabla 21**; **H₂₀** posee un mejor actividad leishmanicida en una proporción de 1.5 que más que **H₁₀**. Es estos ensayos se observa que aún falta llegar a valores cercanos con respecto al control positivo.

Tabla 20. Actividad antileishmanicida de híbridos sustituidos en posición C3' y C4'.

Compuesto	Molécula	Antileishmanial EC ₅₀ (μM)
H₁₁		27.8±0.2
H₁₉		55.1±8.6
H₁₁₀		53.0±2.1
H₂₅		18.6±3.51
H₂₂		32.3±1.7
Control Anfotericina B		0.3±0.02

Los resultados se presentan concentrados en la **Tabla 21** se consignan la actividad antitripanosomal, los diferentes sustituyentes de cada híbrido y el índice de selectividad.

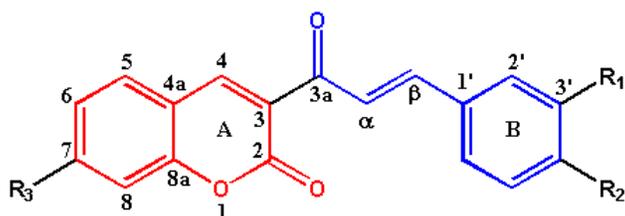


Tabla 21. Actividad antileishmanial *in vitro* de los híbridos cumarina-chalcona.

Compuesto	Sustituyentes			Antileishmanial <i>L. braziliensis</i>	
	R ₁	R ₂	R ₃	CE ₅₀ (μM)	IS
H₁₀ (Cumarina)	—	—	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	42.1±5.5	>4.75
H₁₁	-H	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	27.8±0.2	3.31
H₁₂	-H	-OCH ₃	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	25.6±0.4	5.38
H₁₃	-CH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	29.3±4.3	>6.83
H₁₄	-OCH ₃	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	30.8±6.5	>6.48
H₁₅	-Br	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	27.4±0.9	6.37
H₁₆	-H	-Cl	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	45.2±5.1	>4.42
H₁₇	-NO ₂	-H	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	56.9±2.2	>3.51
H₁₈	-H	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	58.1±8.8	>3.62
H₁₉	-OCH ₂ O-		-N(CH ₂ CH ₃) ₂	55.1±8.6	>3.44
H₁₁₀	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-N(CH ₂ CH ₃) ₂	53.0±2.1	>3.77
H₂₀ (Cumarina)	—	—	-OCH ₃	27.2±1.6	6.17
H₂₁	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	29.8±1.0	>6.71
H₂₂	-OCH ₂ O-		-OCH ₃	32.3±1.7	>6.19
H₂₃	-H	-OH	-OCH ₃	38.5±0.6	>5.19
H₂₄	-CH ₃	-H	-OCH ₃	31.5±4.5	3.16
H₂₅	-OCH ₂ CH ₃	-OH	-OCH ₃	18.6±3.51	2.10
H₂₆	-H	-NO ₂	-OCH ₃	43.2±6.6	>4.62
Control Anfotericina B				0.3±0.02	164.1

Finalmente, los híbridos sintetizados presentaron una actividad entre 18.6±3.5 y 58.05±8.81 μM. Nuevamente, la mayor actividad biológica fue exhibida por el compuesto **H₂₅**, con EC₅₀ de 18.64±3.51 μM. Aunque el compuesto **H₁₁₀** presenta los mismos sustituyentes que **H₂₅**

en el núcleo cinamoil, el segundo mostró una débil actividad contra *L. braziliensis*. Lo anterior sugiere que el sustituyente en C7 resulta importante para la actividad biológica, siendo el grupo metoxi el que aporta la mayor actividad. Se presume que la actividad del híbrido **H₂₅** es mediada por la existencia de los grupos O-metilo en C7 y el O-etilo en C3', los cuales aumentan la lipofilicidad y por ende la permeabilidad a nivel de las membranas celulares¹²⁶. Una mayor actividad antileishmanial de los derivados dimetilamino también fue observada al comparar los híbridos **H₂₃** ($EC_{50}=38.53\pm 0.62 \mu\text{M}$) y **H₁₈** ($EC_{50}=58.05\pm 8.81 \mu\text{M}$), y **H₂₂** ($EC_{50}=32.29\pm 1.71 \mu\text{M}$) y **H₁₉** ($EC_{50}=55.13\pm 8.64 \mu\text{M}$).

El híbrido **H₁₂** con EC_{50} de $25.57\pm 0.44 \mu\text{M}$, también posee una actividad antileishmanial alta; esto posiblemente se deba a la presencia del grupo O-metilo en C4'. Los híbridos restantes poseen una actividad moderada a excepción de **H₁₇**, **H₁₈**, **H₁₉** que poseen actividades bajas. Los compuestos con sustituyentes nitro y cloro, híbridos **H₁₆**, **H₁₇**, y **H₂₆** mostraron una baja actividad contra *L. braziliensis*.

Es importante precisar que la posición C7 es clave para la actividad contra *Leishmania spp.*; las sustituciones en esta posición proporcionan un aumento o una disminución de la actividad antiparasitaria. En nuestro caso, la presencia del grupo metoxi resultó en un incremento en la actividad antileishmanial, comparada con el grupo dimetilamino. De acuerdo con Arraché et al. (2020)¹²⁷, la presencia de grupos donadores de enlaces de hidrógeno en C7, mejora la actividad contra *L. braziliensis*.

Los relacionamientos de estructura y actividad nos sugieren finalmente, para tener una molécula con mejor actividad leishmanicida basados en un núcleo cumarina-chalcona y con sustituyentes en C7, C3' y C4' se muestra en la **figura 27**, siendo las mismas características que en los resultados obtenidos en *T. cruzi*.

5.4.3. Análisis de parámetros farmacocinéticos

En la **tabla 22** se muestran los parámetros físico-químicos de todos los híbridos sintetizados.

Tabla 22. Parámetros de Lipinski y farmacocinéticos de híbridos cumarina-chalcona.

Hibrido	PM	LogP	nHBA	nHBD	TPSA	Lipinski #violaciones	RM	nRotB	GI absorción	CYP1A2 inhibidor
H ₁₀	219.28	2.50	2	0	29.54	0	64.61	3	Alto	Si
H ₁₁	349.42	3.78	3	0	46.61	0	104.04	6	Alto	No
H ₁₂	379.45	3.80	4	0	55.84	0	110.53	7	Alto	No
H ₁₃	363.45	4.13	3	0	46.61	0	109.01	6	Alto	No
H ₁₄	379.45	3.72	4	0	55.84	0	110.53	7	Alto	No
H ₁₅	428.32	4.51	3	0	46.61	0	111.74	6	Alto	No
H ₁₆	383.87	4.45	3	0	46.61	0	109.05	6	Alto	No
H ₁₇	394.42	3.12	5	0	92.43	0	112.86	7	Alto	No
H ₁₈	365.42	3.51	4	1	66.84	0	106.06	6	Alto	No
H ₁₉	393.43	3.73	5	0	65.07	0	110.10	6	Alto	No
H ₁₁₀	409.47	3.81	5	1	76.07	0	117.36	8	Alto	No
H ₁₁₁	416.47	3.61	5	0	68.20	0	125.10	7	Alto	No
H ₂₀	178.18	1.83	3	0	35.53	0	47.29	1	Alto	Si
H ₂₁	338.35	3.12	5	0	61.83	0	93.20	5	Alto	No
H ₂₂	352.34	2.97	6	0	71.06	0	92.77	4	Alto	Si
H ₂₃	324.33	2.78	5	1	72.83	0	88.73	4	Alto	No
H ₂₄	322.35	3.48	4	0	52.60	0	91.68	4	Alto	No
H ₂₅	368.38	3.06	6	1	82.06	0	100.03	6	Alto	No
H ₂₆	353.33	2.38	6	0	98.42	0	95.53	5	Alto	No

PM(g/mol): Peso molecular (150-500 g/mol); LogP: Logaritmo del coeficiente de reparto octanol/agua (-2 a 6.5); nHBA: número de enlaces aceptores de hidrógeno (<10); nHBD: número de enlaces donadores de hidrógeno(≤5), TPSA: Área de superficie polar total (<140Å²); RM: refractividad molar; absorción GI (Gastrointestinal); CYP1A2: miembro 2 de la subfamilia A de la familia 1 del citocromo P450, nRotB: Número de enlaces rotables (0-10).

Los parámetros farmacológicos calculados proporcionan información válida y útil para pensar en desarrollos farmacéuticos acordes con los híbridos sintetizados. Todos los híbridos cumplen con tener un peso molecular ($PM \leq 500$ Da) siendo los **H₁₀** y **H₂₀** las moléculas con menos peso molecular debido a ser los núcleos de cumarina. El coeficiente de partición es una variable fisicoquímica indispensable a la hora de elucidar las características estructurales y la actividad.¹²⁸ Los híbridos sintetizados cumplen los criterios de Lipinski en especial los híbridos con mejor actividad antiparasitaria **H₁₂**, **H₁₄**, **H₁₅**, **H₂₄**, **H₂₅** ($PM \leq 500$ Da, LogP (-2.0 a 6.5), #H-Enlace aceptor <10, #H-Enlace donador ≤ 5 , TASP < 140 \AA^2).^{129,112} Por lo tanto es una buena señal frente a las interacciones de permeabilidad, que estas moléculas pueden tener con las células de *L. braziliensis* y *T. cruzi*. Se pueden tener como posibles candidatas de partida para el tratamiento farmacológico de las afecciones parasitarias estudiadas.

La totalidad de los híbridos de la serie **H_{1n}** poseen unos coeficientes de partición entre un $2.50 \leq \log p \leq 4.51$ mientras la serie **H_{2n}** posee $1.83 \leq \log p \leq 3.48$, lo cual indica una buena lipofilia. Entre ellos se destaca de los primeros híbridos **H₁₅** > **H₁₆** > **H₁₃** > **H₁₁₀** > **H₁₂** > **H₁₁** y para los segundos híbridos **H₂₄** > **H₂₁** > **H₂₅**. Los valores LogP mayores están dados por los híbridos que están sustituidos en C4' por grupos atrectores de electrones (Br, Cl) y por grupos donadores (O-alquilo, CH₃, H).¹³⁰ Estos resultados pueden ser contrastados con la actividad antitripanosómica y leishmanicida, se encuentra una correspondencia. Esto puede ser explicado a las interacciones lipofílicas entre molécula y membrana, de las células hospedadoras y parasitaria.¹³¹

El híbrido **H₂₅** es el más promisorio debido a su actividad, se observa que este híbrido está entre los mayores valores de TPSA, lo cual podría indicar que esta molécula pueden formar una buena cantidad de interacciones polares con las células hospedadoras y parasitaria.¹³² De igual manera se observa que este híbrido con mejor actividad (**H₂₅**) poseen entre los híbridos de su serie, valor más alto de refractividad molar (100.03) estos valores sugieren que el tamaño y hidrofobicidad son factores importantes frente a la actividad antiparasitaria, pueden proporcionar mayores interacciones con los componentes enzimáticos de las células objetivo.^{133,134,135}

Los compuestos con mejores resultados antiparasitarios presentan en su estructura entre 6-7 enlaces rotables (**ver tabla 22**), esto proporciona mayor flexibilidad y mayor posibilidad de interacciones químicas que ayuden a mejorar la penetración celular o inhibición de componentes celulares. Todos los compuestos poseen un IG >80% en cuanto a la adsorción gastrointestinal y no son inhibidores del citocromo CYP1A2 con excepción

a los núcleos de cumarina y el híbrido **H₂₂**; estos parámetros sugieren buenas características farmacocinéticas y metabólicas de los híbridos evaluados.^{136,137}

7. CONCLUSIÓN

Los híbridos cumarina-chalcona son moléculas que poseen una buena actividad antiparasitaria; aproximadamente, más del 80% de los híbridos posee una actividad leishmanicida entre moderada y alta; al igual que los núcleos de cumarina. La totalidad de los híbridos poseen una actividad tripanocida entre moderada y alta, según Cuartas et al., 2020. Además, los compuestos tienen baja citotoxicidad en su gran mayoría. Los híbridos con grupos *O*-alquilo en posición C3', C4' y C7 poseen una buena actividad parasitaria, destacándose el híbrido **H₂₅** contra *T. cruzi*, que posee una actividad similar al Benznidazol. La presencia en estas posiciones de grupos -OH, también contribuye en mejorar la actividad, al igual que la cantidad de carbonos en el grupo *O*-alquilo. Los híbridos cumplen con los criterios de Lipinski, lo cual los cualifica como óptimos para ser tenidos en cuenta en posibles desarrollos farmacológicos. Los parámetros de TPSA, refractividad molar y LogP pueden proporcionar una información de la lipofiliidad de los compuestos, lo cual se contrasta con la actividad antiparasitaria, en los resultados de estos parámetros se destaca el híbrido **H₂₅**. Por lo anterior, se abre una gran posibilidad en la formación de nuevos híbridos sintéticos, que podrían ser utilizados como estrategias farmacológicas en el tratamiento de enfermedades parasitarias.

Se destaca la síntesis de híbridos nuevos **H₁₅**, **H₁₇**, **H₁₁₀**, **H₂₂**, **H₂₄** y **H₂₅**, lo cual es importante en la investigación actual contra las enfermedades parasitarias, esto amplía las posibilidades y entra a apoyar las otras posibles investigaciones que se deriven en el mismo ámbito.

8. PERSPECTIVAS

La química medicinal nos proporciona estrategias sintéticas para la búsqueda de nuevas moléculas activas que sirvan para combatir las enfermedades parasitarias y desatendidas. Las cuales afectan principalmente a las personas de países tropicales, en vía de desarrollo y con deficiencias en la prestación de un servicio médico.

En la lucha contra estas enfermedades se extiende en el tiempo, con dos problemáticas generales que se deben combatir de forma multidisciplinar:

- La resistencia farmacológica de los parásitos, es cada vez más común y prevalente.
- Los efectos citotóxicos de los medicamentos estándar utilizados en la actualidad, generan un sin número de efectos secundarios.

Los híbridos cumarina-chalcona, en los ensayos preliminares observados en esta investigación sirven como punto de partida para continuar mejorando las moléculas, por ende mejorar la actividad antiparasitaria y teniendo como objetivo reducir la citotoxicidad en las pruebas de macrófagos.

El estudio continuo de las diferentes formas de interacción biológica de los parásitos en el cuerpo humano, es de vital importancia. El conocimiento generado en las investigaciones dirigidas al comportamiento del parásito en el cuerpo, ayudará a identificar objetivos farmacológicos que ayuden a la inhibición del crecimiento, sin mayor resistencia.

La profundización teórica y experimental de la interacción vector-parásito también es importante a la hora de conglomerar estrategias que ayudan a combatir las infecciones parasitarias. Los diferentes ciclos de vida de los parásitos pertenecientes a *spp. Leishmania* y *ssp. Trypanosoma* hace que su erradicación y tratamiento sean más dificultosos, por esta razón se deben tener en cuenta metodologías vanguardistas para asumir estas infecciones.

El análisis genético, molecular y computacional están abriendo varias alternativas para la lucha contra las enfermedades parasitarias. Los estudios genéticos favorecen a esclarecer cada vez más, los procesos metabólicos de los parásitos, al igual que las alteraciones genéticas que producen mutaciones que ayudan a la resistencia de los parásitos. Por lo tanto, el conocimiento y la claridad de estos procesos contribuyen a buscar soluciones de manera más rápida y eficiente.

Los modelos computacionales están contribuyendo en la actualidad a optimizar el diseño farmacológico de moléculas antiparasitarias, direccionando cada vez más de una manera específica y puntual, interacciones con proteínas que influyen en la supervivencia de los parásitos. En las próximas investigaciones el grupo de QUÍMICA DE LOS PRODUCTOS NATURALES Y LOS ALIMENTOS, debe tener en cuenta los modelos computacionales para apoyar los resultados obtenidos de manera *in vitro*.

9. APORTES Y PRODUCCIÓN DERIVADA

La ejecución de esta investigación proporcionó información valiosa para ser reproducida y ser utilizada como punto de partida para posteriores investigaciones direccionadas en el ámbito de química medicinal, con la necesidad de buscar y aportar en la búsqueda de compuestos más activos que puedan ser utilizados en la lucha contra las enfermedades parasitarias.

Posterior a esta investigación y de manera alterna se fueron desarrollando proyectos, los cuales han ido a través del tiempo mostrando resultados que evidencian un mejoramiento continuo de las conclusiones y de los conocimientos aportados por este trabajo:

1. Aplicación de metodología de Docking Molecular en los resultados de esta investigación.

La apropiación de nuevas computacionales en el ámbito de la interacción molecular, es de principal importancia, a la hora de un sustento teórico de los resultados obtenidos de manera de *in vitro* por tal razón, a este trabajo de investigación se le realizará el análisis mediante docking molecular para seguir comprendiendo el funcionamiento de los híbridos chalcona-cumarina en los sistemas biológicos enzimáticos.

2. El mejoramiento de los híbridos de los cumarina-chalcona

Partiendo de los resultados de esta investigación se propuso tenerla como base para hacer nuevamente sustituciones, que aporten en mejorar la actividad antiparasitaria. En búsqueda de lo anterior, a las moléculas híbridas mediante una adición de un paso sintético se ha logrado la adición de un grupo pirrol. Esta nueva molécula ha mostrado mejores resultados en la actividad leishmanicida, en cuanto a la actividad antitripanosómica esta molécula posee mejor actividad que el control positivo utilizado, Benznidazol.

3. Evaluación *in vitro* de los híbridos cumarina- chalcona contra células A549

Mediante un análisis del gran espectro bioactivo de los híbridos chalcona-cumarina, se ha emprendido con ensayos de biológicos anticáncer en la línea celular A549 de manera *in vitro*. Hasta ahora se observado que los híbridos poseen actividad anticáncer y una selectividad en contraste con células CHO.

4. Búsqueda de alianzas estratégicas a nivel internacional, para sintetizar y evaluar híbridos que inhiben el canal Lactato/H⁺ en parásitos del género ssp *Plasmodium*.

Se han establecido contacto con el Dr. Eric Beitz de instituto de farmacia de la Universidad de Kiel, para realizar una metodología sintética de híbridos dirigidos a la inhibición de canal Lactato/H⁺ en ssp *Plasmodium*.

5. Relacionamiento con otros grupos de investigación PECET (SIU), citogenética (Unalmed), química orgánica de productos naturales (UdeA), química de plantas colombianas (UdeA).

La generación de conocimiento y la obtención de resultados significativos en la ciencia, se dan a través del trabajo colaborativo y de la retroalimentación de diversas fuentes. Estos grupos nos han brindado su experiencia y conocimientos en pruebas biológicas parasitarias, anticancerígenas, análisis de espectrometría, facilitación de reactivos, transferencia de conocimientos de híbridos, etc.

6. Estandarización y apropiación de técnicas de formación de híbridos, pruebas antiparasitarias, anticáncer y docking molecular.

Esta investigación abre un camino en el grupo de investigación, la cual contribuirá en una nueva línea de investigativa en la cual se podrán desenvolver los próximos estudiantes, los cuales, cada vez más refinarán y se apropiarán de las técnicas y conocimientos generados en esta investigación.

10. REFERENCIAS

- (1) Organización Mundial de la Salud (OMS). Hoja de Ruta Sobre Enfermedades Tropicales Desatendidas 2021-2030. 2021.
- (2) Valero, N. N. H.; Uriarte, M. Environmental and Socioeconomic Risk Factors Associated with Visceral and Cutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review. *Parasitol. Res.* **2020**, *119* (2), 365–384. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06575-5>.
- (3) Abadías-Granado, I.; Diago, A.; Cerro, P. A.; Palma-Ruiz, A. M.; Gilaberte, Y. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. *Actas Dermosifiliogr.* **2021**, *112* (7), 601–618. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2021.02.008>.
- (4) Organización Mundial de la Salud (OMS). Leishmaniasis <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (accessed Dec 16, 2021).
- (5) Minsalud de Colombia, F. A. M. P. PLAN ESTRATEGICO LEISHMANIASIS 2018-2022. 2019.
- (6) Ferreras González, A.; García Cuartero, I.; Gato Díez, A.; Ferreras Fernández, P. Infecciones Por Protozoos Hemoflagelados: Leishmaniasis, Enfermedad de Chagas y Tripanosomiasis Africana. *Med. - Programa Form. Médica Contin. Acreditado* **2014**, *11* (54), 3194–3207. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(14\)70758-9](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(14)70758-9).
- (7) Bern, C. Chagas' Disease. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1410150> **2015**, *373* (5), 456–466. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1410150>.
- (8) Organización Mundial de Salud. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana) [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)) (accessed Dec 16, 2021).
- (9) World Health Organization Geneva. Chagas Disease in Latin America : An Epidemiological Update Based on 2010 Estimates Maladie de Chagas En Amérique Latine : Le Point Épidémiologique Basé Sur Les Estimations de 2010. *Wkly. Epidemiol. Rec.* **2015**, *6*, 5–13.
- (10) Herazo, R.; Torres-Torres, F.; Mantilla, C. A. G.; Carillo, L. P.; Cuervo, A.; Camargo, M. A. M.; Moreno, J. F.; Forsyth, C.; Vera, M. J.; Díaz, R. A. C.;

- Marchiol, A. On-Site Experience of a Project to Increase Access to Diagnosis and Treatment of Chagas Disease in High-Risk Endemic Areas of Colombia. *Acta Trop.* **2022**, 226 (October 2021), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106219>.
- (11) Trouiller, P.; Olliaro, P.; Torreele, E.; Orbinski, J.; Laing, R.; Ford, N. Drug Development for Neglected Diseases: A Deficient Market and a Public-Health Policy Failure. *Lancet* **2002**, 359 (9324), 2188–2194. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09096-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09096-7).
- (12) Cardona-Arias, J. A.; Salas-Zapata, W.; Carmona-Fonseca, J. Systematic Review of Qualitative Studies about Malaria in Colombia. *Heliyon* **2020**, 6 (5), e03964. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E03964>.
- (13) Croft, S. L.; Barrett, M. P.; Urbina, J. A. Chemotherapy of Trypanosomiasis and Leishmaniasis. *Trends Parasitol.* **2005**, 21 (11), 508–512. <https://doi.org/10.1016/J.PT.2005.08.026>.
- (14) Aparicio, P.; Rodríguez, E.; Gárate, T.; Molina, R.; Soto, A.; Alvar, J. Terapéutica Antiparasitaria. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2003**, 21 (10), 579–594.
- (15) Pérez-Molina, J. A.; Díaz-Menéndez, M.; Pérez-Ayala, A.; Ferrere, F.; Monje, B.; Norman, F.; López-Vélez, R. Tratamiento de Las Enfermedades Causadas Por Parásitos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2010**, 28 (1), 44–59. <https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2009.11.003>.
- (16) Ahmad, P.; Ahanger, M. A.; Singh, V. P.; Tripathi, D. K.; Alam, P.; Alyemeni, M. N. Plant Metabolites and Regulation under Environmental Stress. *Plant Metab. Regul. under Environ. Stress* **2018**, 1–434. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-03727-0>.
- (17) Sanchez, S.; Demain, A. L. Secondary Metabolites. *Compr. Biotechnol. Second Ed.* **2011**, 1, 155–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00018-0>.
- (18) Bhattacharya, A. High-Temperature Stress and Metabolism of Secondary Metabolites in Plants. *Eff. High Temp. Crop Product. Metab. Macro Mol.* **2019**, 391–484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817562-0.00005-7>.
- (19) Muregi, F. W.; Ishih, A. Next-Generation Antimalarial Drugs: Hybrid Molecules as a New Strategy in Drug Design. *Drug Dev. Res.* **2010**, 71 (1), 20. <https://doi.org/10.1002/DDR.20345>.
- (20) Cardona-G, W.; Yepes, A. F.; Herrera-R, A. Hybrid Molecules: Promising

Compounds for the Development of New Treatments Against Leishmaniasis and Chagas Disease. *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25* (30), 3637–3679.
<https://doi.org/10.2174/0929867325666180309111428>.

- (21) Uchil, A.; Murali, T. S.; Nayak, R. Escaping ESKAPE: A Chalcone Perspective. *Results Chem.* **2021**, *3*, 100229. <https://doi.org/10.1016/J.RECHEM.2021.100229>.
- (22) Gao, L.; Wang, F.; Chen, Y.; Li, F.; Han, B.; Liu, D. The Antithrombotic Activity of Natural and Synthetic Coumarins. *Fitoterapia* **2021**, *154*, 104947.
<https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2021.104947>.
- (23) Adelusi, T. I.; Du, L.; Chowdhury, A.; Xiaoke, G.; Lu, Q.; Yin, X. Signaling Pathways and Proteins Targeted by Antidiabetic Chalcones. *Life Sci.* **2021**, *284*, 118982. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2020.118982>.
- (24) Dorababu, A. Coumarin-Heterocycle Framework: A Privileged Approach in Promising Anticancer Drug Design. *Eur. J. Med. Chem. Reports* **2021**, *2*, 100006.
<https://doi.org/10.1016/J.EJMCR.2021.100006>.
- (25) Yoham, A. L.; Matta, C. M.; Safar, S. B.; Sankaran, M.; Kaplina, A.; Hettiarachchi, S. D.; Veliz, E. A.; Leblanc, R. M.; Vanni, S.; Graham, R. M. Targeted Delivery of Anti-Cancer Chalcone Drugs for Glioblastoma Multiforme Using Carbon Dots as Nanocarrier. *J. Am. Coll. Surg.* **2020**, *231* (4), S180.
<https://doi.org/10.1016/J.JAMCOLLSURG.2020.07.291>.
- (26) Li, Z.; Kong, D.; Liu, Y.; Li, M. Pharmacological Perspectives and Molecular Mechanisms of Coumarin Derivatives against Virus Disease. *Genes Dis.* **2021**.
<https://doi.org/10.1016/J.GENDIS.2021.03.007>.
- (27) AL-Duhaidahawi, D.; AL-Zubaidy, H. F. S.; Al-Khafaji, K.; AL-Ameiry, A. Synthesis, Anti-Inflammatory Effects, Molecular Docking and Molecular Dynamics Studies of 4-Hydroxy Coumarin Derivatives as Inhibitors of COX-II Enzyme. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1247*, 131377. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2021.131377>.
- (28) Husain, A.; Balushi K, A.; Akhtar, M. J.; Khan, S. A. Coumarin Linked Heterocyclic Hybrids: A Promising Approach to Develop Multi Target Drugs for Alzheimer's Disease. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1241*, 130618.
<https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2021.130618>.
- (29) Yadav, N.; Agarwal, D.; Kumar, S.; Dixit, A. K.; Gupta, R. D.; Awasthi, S. K. In Vitro

- Antiplasmodial Efficacy of Synthetic Coumarin-Triazole Analogs. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *145*, 735–745. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2018.01.017>.
- (30) Aponte, J. C.; Castillo, D.; Estevez, Y.; Gonzalez, G.; Arevalo, J.; Hammond, G. B.; Sauvain, M. In Vitro and in Vivo Anti-Leishmania Activity of Polysubstituted Synthetic Chalcones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (1), 100–103. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2009.11.033>.
- (31) Qin, H. L.; Zhang, Z. W.; Lekkala, R.; Alsulami, H.; Rakesh, K. P. Chalcone Hybrids as Privileged Scaffolds in Antimalarial Drug Discovery: A Key Review. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *193*, 112215. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2020.112215>.
- (32) Rodríguez-Hernández, K. D.; Martínez, I.; Agredano-Moreno, L. T.; Jiménez-García, L. F.; Reyes-Chilpa, R.; Espinoza, B. Coumarins Isolated from *Calophyllum Brasiliense* Produce Ultrastructural Alterations and Affect in Vitro Infectivity of *Trypanosoma Cruzi*. *Phytomedicine* **2019**, *61*, 152827. <https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2019.152827>.
- (33) Singh, N.; Mishra, B. B.; Bajpai, S.; Singh, R. K.; Tiwari, V. K. Natural Product Based Leads to Fight against Leishmaniasis. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22* (1), 18–45. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2013.11.048>.
- (34) Magill, A. J. Leishmaniasis. *Hunter's Trop. Med. Emerg. Infect. Dis. Ninth Ed.* **2013**, 739–760. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4390-4.00099-0>.
- (35) Sharma, U.; Singh, S. Immunobiology of Leishmaniasis. *IJEB Vol.47(06) [June 2009]* **2009**, *47*, 412–423.
- (36) Gyapong, J. O. *An Overview of Neglected Tropical Diseases.*; 2016.
- (37) Abadías-Granado, I.; Diago, A.; Cerro, P. A.; Palma-Ruiz, A. M.; Gilaberte, Y. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Ed.)* **2021**, *112* (7), 601–618. <https://doi.org/10.1016/J.ADENGL.2021.05.011>.
- (38) Instituto Nacional de salud; Ministerio de Salud; 2022. Boletín Epidemiológico Semanal 25 https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletínEpidemiologico/2022_Boletín_epidemiologico_semana_25.pdf (accessed Feb 27, 2023).
- (39) Peláez, R. G.; Muskus, C. E.; Cuervo, P.; Marín-Villa, M. Expresión Diferencial de

Proteínas En Leishmania (Viannia) Panamensis Asociadas Con Mecanismos de Resistencia a Antimoniato de Meglumina. *Biomedica* **2012**, 32 (3), 418–429.
<https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.V32I3.392>.

- (40) Díaz, M. L.; González, C. I. Enfermedad de Chagas Agudo: Transmisión Oral de Trypanosoma Cruzi Como Una Vía de Transmisión Re-Emergente. *Rev. la Univ. Ind. Santander. Salud* **2014**, 46 (2), 177–188.
- (41) Aronson, N.; Herwaldt, B. L.; Libman, M.; Pearson, R.; Lopez-Velez, R.; Weina, P.; Carvalho, E. M.; Ephros, M.; Jeronimo, S.; Magill, A. Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Clin. Infect. Dis.* **2016**, 63 (12), e202–e264.
<https://doi.org/10.1093/CID/CIW670>.
- (42) Vélez Bernal, I. D.; Robledo Restrepo, S. M.; Torres Gutiérrez, C.; Carrillo Bonilla, L. M.; López Carvajal, L.; Muskus López, C. E. *Manual de Procedimientos Para El Diagnóstico y Control de La Leishmaniasis En Centroamérica*; 2010.
- (43) Coura, J. R.; Dias, J. C. P.; Frasc, A. C. C.; Guhl, F.; Lazzari, J. O.; Lorca, M.; Monroy Escobar, C.; Ponce, C.; Silveira, A. C.; Velazquez, G.; Zingales, B. Control of Chagas Disease. *World Heal. Organ. - Tech. Rep. Ser.* **2002**, No. 905, 1–99.
[https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(02\)90338-x](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(02)90338-x).
- (44) Angulo, V. M. Enfermedad de Chagas En Santander. *Medicas-UIS* **1992**, 6 (4), 204–206.
- (45) Guhl, F. Estado Actual Del Control de La Enfermedad de Chagas En Colombia. *Medicina (B. Aires)*. **1999**, 59 (SUPPL. 2), 103–116.
- (46) Instituto Nacional de Salud. Enfermedad de Chagas En Busca de La Sostenibilidad. *Bol. epidemiológico Sem.* **2021**, *Semana 14* (Boletín del 4 al 10 de abril 2021), 7 y 8.
- (47) Ligia Perez, Yesika Rojas, M. R. La Enfermedad De Chagas En El Departamento De Amazonas (Colombia). *SSA-ES Tripanosomiasis Updat.* **2005**, 1 (1), 187–212.
- (48) Cantey, P. T.; Stramer, S. L.; Townsend, R. L.; Kamel, H.; Ofafa, K.; Todd, C. W.; Currier, M.; Hand, S.; Varnado, W.; Dotson, E.; Hall, C.; Jett, P. L.; Montgomery, S. P. CDC - Chagas Disease - Epidemiology & Risk Factors. *Transfusion* **2019**, 52

- (9), 1922–1930. <https://doi.org/10.1111/J.1537-2995.2012.03581.X/FULL>.
- (49) Bern, C.; Montgomery, S. P.; Herwaldt, B. L.; Rassi, A.; Marin-Neto, J. A.; Dantas, R. O.; Maguire, J. H.; Acquatella, H.; Morillo, C.; Kirchhoff, L. V.; Gilman, R. H.; Reyes, P. A.; Salvatella, R.; Moore, A. C. Evaluation and Treatment of Chagas Disease in the United States: A Systematic Review. *JAMA* **2007**, *298* (18), 2171–2181. <https://doi.org/10.1001/JAMA.298.18.2171>.
- (50) Edwards, M. S.; Stimpert, K. K.; Bialek, S. R.; Montgomery, S. P. Evaluation and Management of Congenital Chagas Disease in the United States. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* **2019**, *8* (5), 461–469. <https://doi.org/10.1093/JPIDS/PIZ018>.
- (51) Pan, S.-Y.; Litscher, G.; Gao, S.-H.; Zhou, S.-F.; Yu, Z.-L.; Chen, H.-Q.; Zhang, S.-F.; Tang, M.-K.; Sun, J.-N.; Ko, K.-M. Historical Perspective of Traditional Indigenous Medical Practices: The Current Renaissance and Conservation of Herbal Resources. **2014**. <https://doi.org/10.1155/2014/525340>.
- (52) Jamshidi-Kia, F.; Lorigooini, Z.; Amini-Khoei, H. Medicinal Plants: Past History and Future Perspective. *J. Herbmed Pharmacol.* **2017**, *7* (1), 1–7. <https://doi.org/10.15171/JHP.2018.01>.
- (53) Kılıç, C. S. Herbal Coumarins in Healthcare. *Herb. Biomol. Healthc. Appl.* **2022**, 363–380. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85852-6.00003-2>.
- (54) Li, N.; Guo, T. ting; Zhou, D. Bioactive Sesquiterpene Coumarins From Plants. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2018**, *59*, 251–282. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64179-3.00008-6>.
- (55) Fitocosmética: Fitoingredientes y otros productos naturales - Jelena L. Nadinic, Arnaldo L. Bandoni, Virginia S. Martino, Graciela E. Ferraro - Google Libros <https://books.google.com.co/books?id=9uBDDAAAQBAJ&pg=PT87&dq=cumarinas+y+estructura&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwikmvyG8O30AhV6RDABHXUyA00Q6AF6BAgLEAI#v=onepage&q=cumarinas+y+estructura&f=false> (accessed Dec 18, 2021).
- (56) Sugino, T.; Tanaka, K. Solvent-Free Coumarin Synthesis. *Chem. Lett.* **2001**, No. 2, 110–111. <https://doi.org/10.1246/cl.2001.110>.
- (57) Vilas-Boas, D. F.; Oliveira, R. R. G.; Gonçalves-Santos, E.; Silva, L. S.; Diniz, L. F.; Mazzeti, A. L.; Brancaglioni, G. A.; Carvalho, D. T.; Caldas, S.; Novaes, R. D.;

- Caldas, I. S. 4-Nitrobenzoylcoumarin Potentiates the Antiparasitic, Anti-Inflammatory and Cardioprotective Effects of Benznidazole in a Murine Model of Acute Trypanosoma Cruzi Infection. *Acta Trop.* **2022**, 228. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2022.106314>.
- (58) Rodríguez-Hernández, K. D.; Martínez, I.; Reyes-Chilpa, R.; Espinoza, B. Mamea Type Coumarins Isolated from Calophyllum Brasiliense Induced Apoptotic Cell Death of Trypanosoma Cruzi through Mitochondrial Dysfunction, ROS Production and Cell Cycle Alterations. *Bioorg. Chem.* **2020**, 100, 103894. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2020.103894>.
- (59) Silva, L. G.; Gomes, K. S.; Costa-Silva, T. A.; Romanelli, M. M.; Tempone, A. G.; Sartorelli, P.; Lago, J. H. G. Calanolides E1 and E2, Two Related Coumarins from Calophyllum Brasiliense Cambess. (Clusiaceae), Displayed in Vitro Activity against Amastigote Forms of Trypanosoma Cruzi and Leishmania Infantum. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1765347> **2020**, 35 (23), 5373–5377. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1765347>.
- (60) Gomes Nascimento Soares, F.; Göethel, G.; Porto Kagami, L.; Machado das Neves, G.; Sauer, E.; Birriel, E.; Varela, J.; Luís Gonçalves, I.; Von Poser, G.; González, M.; Fábio Kawano, D.; Reisdorfer Paula, F.; Borges de Melo, E.; Cristina Garcia, S.; Cerecetto, H.; Lucia Eifler-Lima, V. Novel Coumarins Active against Trypanosoma Cruzi and Toxicity Assessment Using the Animal Model Caenorhabditis Elegans. **2019**. <https://doi.org/10.1186/s40360-019-0357-z>.
- (61) Coelho, G. S.; Andrade, J. S.; Xavier, V. F.; Sales Junior, P. A.; Rodrigues de Araujo, B. C.; Fonseca, K. da S.; Caetano, M. S.; Murta, S. M. F.; Vieira, P. M.; Carneiro, C. M.; Taylor, J. G. Design, Synthesis, Molecular Modelling, and in Vitro Evaluation of Tricyclic Coumarins against Trypanosoma Cruzi. *Chem. Biol. Drug Des.* **2019**, 93 (3), 337–350. <https://doi.org/10.1111/CBDD.13420>.
- (62) Rosa, I. A.; de Almeida, L.; Alves, K. F.; Marques, M. J.; Fregnan, A. M.; Silva, C. A.; Giacoppo, J. O. S.; Ramalho, T. C.; Carvalho, D. T.; dos Santos, M. H. Synthesis and in Vitro Evaluation of Leishmanicidal Activity of 7-Hydroxy-4-Phenylcoumarin Derivatives. *Med. Chem. Res.* 2016 261 **2016**, 26 (1), 131–139. <https://doi.org/10.1007/S00044-016-1729-1>.
- (63) Costa, R. S.; Souza Filho, O. P.; Dias Júnior, O. C. S.; Silva, J. J.; Le Hyaric, M.;

- Santos, M. A. V.; Velozo, E. S. In Vitro Antileishmanial and Antitrypanosomal Activity of Compounds Isolated from the Roots of *Zanthoxylum Tingoassuiba*. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2018**, *28*, 551–558. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.04.013>.
- (64) Freitas, R. F.; Prokopczyk, I. M.; Zottis, A.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D.; Trevisan, M. T. S.; Vilegas, W.; Silva, M. G. V.; Montanari, C. A. Discovery of Novel Trypanosoma Cruzi Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17* (6), 2476–2482. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2009.01.079>.
- (65) Brenzan, M. A.; Nakamura, C. V.; Prado Dias Filho, B.; Ueda-Nakamura, T.; Young, M. C. M.; Aparício Garcia Cortez, D. Antileishmanial Activity of Crude Extract and Coumarin from *Calophyllum Brasiliense* Leaves against *Leishmania Amazonensis*. *Parasitol. Res.* **2007**, *101* (3), 715–722. <https://doi.org/10.1007/S00436-007-0542-7>.
- (66) Donnelly, D. M. X. The Chemistry of Chalcones and Related Compounds : By D. N. Dhar. John Wiley, New York, 1981. 285 Pp. *Phytochemistry* **1982**, *21* (9), 2435. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(82\)85234-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(82)85234-5).
- (67) Prashar, H.; Chawla, A.; Sharma, A. K.; Kharb, R. Chalcone as a Versatile Moiety for Diverse Pharmacological Activities. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2012**, *3* (07), 1913–1927.
- (68) Patil, C. B.; Mahajan, S. K.; Katti, S. A. Chalcone: A Versatile Molecule. *J. Pharm. Sci. Res.* **2009**, *1* (3), 11–22.
- (69) Rodrigues, D. F.; Maniscalco, D. A.; Silva, F. A. J.; Chiari, B. G.; Castelli, M. V.; Isaac, V. L. B.; Cicarelli, R. M. B.; López, S. N. Trypanocidal Activity of Flavokawin B, a Component of *Polygonum Ferrugineum* Wedd. *Planta Med.* **2017**, *83* (3–04), 239–244. <https://doi.org/10.1055/S-0042-112031>.
- (70) Borsari, C.; Santarem, N.; Torrado, J.; Olías, A. I.; Corral, M. J.; Baptista, C.; Gul, S.; Wolf, M.; Kuzikov, M.; Ellinger, B.; Witt, G.; Gribbon, P.; Reinshagen, J.; Linciano, P.; Tait, A.; Costantino, L.; Freitas-Junior, L. H.; Moraes, C. B.; Bruno dos Santos, P.; Alcântara, L. M.; Franco, C. H.; Bertolacini, C. D.; Fontana, V.; Tejera Nevado, P.; Clos, J.; Alunda, J. M.; Cordeiro-da-Silva, A.; Ferrari, S.; Costi, M. P. Methoxylated 2'-Hydroxychalcones as Antiparasitic Hit Compounds. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *126*, 1129–1135. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2016.12.017>.

- (71) Sandjo, L. P.; de Moraes, M. H.; Kuete, V.; Kamdoum, B. C.; Ngadjui, B. T.; Steindel, M. Individual and Combined Antiparasitic Effect of Six Plant Metabolites against *Leishmania Amazonensis* and *Trypanosoma Cruzi*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (7), 1772–1775. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2016.02.044>.
- (72) González, L. A.; Upegui, Y. A.; Rivas, L.; Echeverri, F.; Escobar, G.; Robledo, S. M.; Quiñones, W. Effect of Substituents in the A and B Rings of Chalcones on Antiparasite Activity. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2020**, *353* (12). <https://doi.org/10.1002/ARDP.202000157>.
- (73) Osman, M. S.; Awad, T. A.; Shantier, S. W.; Garelnabi, E. A.; Osman, W.; Mothana, R. A.; Nasr, F. A.; Elhag, R. I. Identification of Some Chalcone Analogues as Potential Antileishmanial Agents: An Integrated in Vitro and in Silico Evaluation. *Arab. J. Chem.* **2022**, *15* (4), 103717. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2022.103717>.
- (74) Ortalli, M.; Ilari, A.; Colotti, G.; De Ionna, I.; Battista, T.; Bisi, A.; Gobbi, S.; Rampa, A.; Di Martino, R. M. C.; Gentilomi, G. A.; Varani, S.; Belluti, F. Identification of Chalcone-Based Antileishmanial Agents Targeting Trypanothione Reductase. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *152*, 527–541. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2018.04.057>.
- (75) Gomes, M. N.; Alcântara, L. M.; Neves, B. J.; Melo-Filho, C. C.; Freitas-Junior, L. H.; Moraes, C. B.; Ma, R.; Franzblau, S. G.; Muratov, E.; Andrade, C. H. Computer-Aided Discovery of Two Novel Chalcone-like Compounds Active and Selective against *Leishmania Infantum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27* (11), 2459–2464. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2017.04.010>.
- (76) Chen, X.; Mukwaya, E.; Wong, M. S.; Zhang, Y. A Systematic Review on Biological Activities of Prenylated Flavonoids. *Pharm. Biol.* **2014**, *52* (5), 655–660. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.853809>.
- (77) Passalacqua, T. G.; Dutra, L. A.; De Almeida, L.; Velásquez, A. M. A.; Torres Esteves, F. A.; Yamasaki, P. R.; Dos Santos Bastos, M.; Regasini, L. O.; Michels, P. A. M.; Da Silva Bolzani, V.; Graminha, M. A. S. Synthesis and Evaluation of Novel Prenylated Chalcone Derivatives as Anti-Leishmanial and Anti-Trypanosomal Compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (16), 3342–3345. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2015.05.072>.

- (78) Claudio Viegas-Junior; Eliezer J. Barreiro; Carlos Alberto Manssour Fraga. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14* (17), 1829–1852. <https://doi.org/10.2174/092986707781058805>.
- (79) Lazar, C.; Kluczyk, A.; Kiyota, T.; Konishi, Y. Drug Evolution Concept in Drug Design: 1. Hybridization Method. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (27), 6973–6982. <https://doi.org/10.1021/jm049637+>.
- (80) Oliveira Pedrosa, M.; Duarte da Cruz, R.; Oliveira Viana, J.; de Moura, R.; Ishiki, H.; Barbosa Filho, J.; Diniz, M.; Scotti, M.; Scotti, L.; Bezerra Mendonca, F. Hybrid Compounds as Direct Multitarget Ligands: A Review. *Curr. Top. Med. Chem.* **2017**, *17* (9), 1044–1079. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160927160620>.
- (81) Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79* (3), 629–661. https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.5B01055/SUPPL_FILE/NP5B01055_SI_002.DOCX.
- (82) Coa, J. C.; García, E.; Carda, M.; Agut, R.; Vélez, I. D.; Muñoz, J. A.; Yepes, L. M.; Robledo, S. M.; Cardona, W. I. Synthesis, Leishmanicidal, Trypanocidal and Cytotoxic Activities of Quinoline-Chalcone and Quinoline-Chromone Hybrids. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26* (7), 1405–1414. <https://doi.org/10.1007/S00044-017-1846-5/TABLES/1>.
- (83) Ramírez-Prada, J.; Robledo, S. M.; Vélez, I. D.; Crespo, M. del P.; Quiroga, J.; Abonia, R.; Montoya, A.; Svetaz, L.; Zacchino, S.; Insuasty, B. Synthesis of Novel Quinoline-Based 4,5-Dihydro-1H-Pyrazoles as Potential Anticancer, Antifungal, Antibacterial and Antiprotozoal Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *131*, 237–254. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2017.03.016>.
- (84) Khatoon, S.; Aroosh, A.; Islam, A.; Kalsoom, S.; Ahmad, F.; Hameed, S.; Abbasi, S. W.; Yasinzai, M.; Naseer, M. M. Novel Coumarin-Isatin Hybrids as Potent Antileishmanial Agents: Synthesis, in Silico and in Vitro Evaluations. *Bioorg. Chem.* **2021**, *110*, 104816. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2021.104816>.
- (85) Aucamp, J.; N'Da, D. D. In Vitro Antileishmanial Efficacy of Antiplasmodial Active Aminoquinoline-Chalcone Hybrids. *Exp. Parasitol.* **2022**, *236–237*, 108249. <https://doi.org/10.1016/J.EXPPARA.2022.108249>.

- (86) Ibrar, A.; Zaib, S.; Jabeen, F.; Iqbal, J.; Saeed, A. Unraveling the Alkaline Phosphatase Inhibition, Anticancer, and Antileishmanial Potential of Coumarin–Triazolothiadiazine Hybrids: Design, Synthesis, and Molecular Docking Analysis. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2016**, *349* (7), 553–565. <https://doi.org/10.1002/ARDP.201500392>.
- (87) Sangshetti, J. N.; Kalam Khan, F. A.; Kulkarni, A. A.; Patil, R. H.; Pachpinde, A. M.; Lohar, K. S.; Shinde, D. B. Antileishmanial Activity of Novel Indolyl–Coumarin Hybrids: Design, Synthesis, Biological Evaluation, Molecular Docking Study and in Silico ADME Prediction. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (3), 829–835. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2015.12.085>.
- (88) Rodriguez S., Figueroa R. , Matos M. , Olea-Azar C., Maya J.D., Uriarte E. , Santana L., B. F. Synthesis and Trypanocidal Properties of New Coumarin-Chalcone Derivatives. *Med. Chem. (Los. Angeles)*. **2015**, *5* (4). <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000260>.
- (89) Hu, C. M.; Luo, Y. X.; Wang, W. J.; Li, J. P.; Li, M. Y.; Zhang, Y. F.; Xiao, D.; Lu, L.; Xiong, Z.; Feng, N.; Li, C. Synthesis and Evaluation of Coumarin-Chalcone Derivatives as α -Glucosidase Inhibitors. *Front. Chem.* **2022**, *10*. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2022.926543/FULL>.
- (90) Patel, K.; Karthikeyan, C.; Hari Narayana Moorthy, N. S.; Deora, G. S.; Solomon, V. R.; Lee, H.; Trivedi, P. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel 3-Cinnamoyl-4-Hydroxy-2H-Chromen-2-Ones as Antimalarial Agents. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21* (8), 1780–1784. <https://doi.org/10.1007/S00044-011-9694-1/METRICS>.
- (91) Sun, Y. F.; Cui, Y. P. The Synthesis, Characterization and Properties of Coumarin-Based Chromophores Containing a Chalcone Moiety. *Dye. Pigment.* **2008**, *78* (1), 65–76. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2007.10.014>.
- (92) Knoevenagel, E. Condensation von Malonsäure Mit Aromatischen Aldehyden Durch Ammoniak Und Amine. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1898**, *31* (3), 2596–2619. <https://doi.org/10.1002/CBER.18980310308>.
- (93) Isac-García, J.; Dobado, J. A.; Calvo-Flores, F. G.; Martínez-García, H. Green Chemistry Experiments. *Exp. Org. Chem.* **2016**, 417–484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803893-2.50013-9>.

- (94) Tietze, L. F.; Beifuss, U. The Knoevenagel Reaction. *Compr. Org. Synth.* **1991**, 341–394. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-052349-1.00033-0>.
- (95) Knoevenagel Condensation - an overview | ScienceDirect Topics [https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unal.edu.co/topics/chemistry/knoevenagel-condensation#reaction](https://www.sciencedirect-com.ezproxy.unal.edu.co/topics/chemistry/knoevenagel-condensation#reaction) (accessed Feb 27, 2023).
- (96) Ferreira, J. M. G. O.; De, J. B. M.; Filho, R.; Batista, P. K.; Teotonio, E. E. S.; Vale, J. A. Rapid and Efficient Uncatalyzed Knoevenagel Condensations from Binary Mixture of Ethanol and Water. *Artic. J. Braz. Chem. Soc* **2018**, 29 (7), 1382–1387. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170240>.
- (97) Aldol Condensation - an overview | ScienceDirect Topics <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/aldol-condensation#> (accessed Feb 27, 2023).
- (98) Ouellette, R. J.; Rawn, J. D. Condensation Reactions of Carbonyl Compounds. *Org. Chem. Study Guid.* **2015**, 419–463. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801889-7.00022-4>.
- (99) Vazquez-Rodriguez, S.; Lama López, R.; Matos, M. J.; Armesto-Quintas, G.; Serra, S.; Uriarte, E.; Santana, L.; Borges, F.; Muñoz Crego, A.; Santos, Y. Design, Synthesis and Antibacterial Study of New Potent and Selective Coumarin-Chalcone Derivatives for the Treatment of Tenacibaculosis. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23 (21), 7045–7052. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2015.09.028>.
- (100) Pingaew, R.; Saekee, A.; Mandi, P.; Nantasenamat, C.; Prachayasittikul, S.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul, V. Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Docking of Novel Chalcone–Coumarin Hybrids as Anticancer and Antimalarial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 85, 65–76. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2014.07.087>.
- (101) Xi, G. L.; Liu, Z. Q. Coumarin Moiety Can Enhance Abilities of Chalcones to Inhibit DNA Oxidation and to Scavenge Radicals. *Tetrahedron* **2014**, 70 (44), 8397–8404. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2014.08.063>.
- (102) Patel, K.; Karthikeyan, C.; Hari Narayana Moorthy, N. S.; Deora, G. S.; Solomon, V. R.; Lee, H.; Trivedi, P. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel 3-Cinnamoyl-4-Hydroxy-2H-Chromen-2-Ones as Antimalarial Agents. *Med.*

Chem. Res. 2011 218 **2011**, 21 (8), 1780–1784. <https://doi.org/10.1007/S00044-011-9694-1>.

- (103) Vazquez-Rodriguez, S.; Figueroa-Guñez, R.; Matos, M. J.; Santana, L.; Uriarte, E.; Lapier, M.; Maya, J. D.; Olea-Azar, C. Synthesis of Coumarin-Chalcone Hybrids and Evaluation of Their Antioxidant and Trypanocidal Properties. *Medchemcomm* **2013**, 4 (6), 993–1000. <https://doi.org/10.1039/c3md00025g>.
- (104) Cuellar, J. E.; Quiñones, W.; Robledo, S.; Gil, J.; Durango, D. Coumaro-Chalcones Synthesized under Solvent-Free Conditions as Potential Agents against Malaria, Leishmania and Trypanosomiasis. *Heliyon* **2022**, 8 (2), e08939. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E08939>.
- (105) Roy, K.; Kar, S. How to Judge Predictive Quality of Classification and Regression Based QSAR Models? *Front. Comput. Chem. Vol. 2 Comput. Appl. Drug Des. Biomol. Syst.* **2015**, 71–120. <https://doi.org/10.1016/B978-1-60805-979-9.50003-2>.
- (106) Davis, A. M. Quantitative Structure-Activity Relationships. *Compr. Med. Chem. III* **2017**, 3–8, 379–392. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12348-0>.
- (107) Verma, J.; Khedkar, V.; Coutinho, E. 3D-QSAR in Drug Design--a Review. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, 10 (1), 95–115. <https://doi.org/10.2174/156802610790232260>.
- (108) Agrawal, V.; Dubey, V.; Shaik, B.; ... J. S.-J. of the I.; 2009, U. Modeling of Lipophilicity of Some Organic Compounds Using Structural and Topological Indices. *J. Indian Chem.* **2009**, No. Soc., 86, 1–9.
- (109) Wood, J. M.; Maibaum, J.; Rahuel, J.; Grütter, M. G.; Cohen, N. C.; Rasetti, V.; Rüger, H.; Göschke, R.; Stutz, S.; Fuhrer, W.; Schilling, W.; Rigollier, P.; Yamaguchi, Y.; Cumin, F.; Baum, H. P.; Schnell, C. R.; Herold, P.; Mah, R.; Jensen, C.; O'Brien, E.; Stanton, A.; Bedigian, M. P. Structure-Based Design of Aliskiren, a Novel Orally Effective Renin Inhibitor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, 308 (4), 698–705. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01451-7](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01451-7).
- (110) Oprea, T. I.; Davis, A. M.; Teague, S. J.; Leeson, P. D. Is There a Difference between Leads and Drugs? A Historical Perspective. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2001**, 41 (5), 1308–1315. <https://doi.org/10.1021/CI010366A>.

- (111) Turfus, S. C.; Delgoda, R.; Picking, D.; Gurley, B. J. Pharmacokinetics. *Pharmacogn. Fundam. Appl. Strateg.* **2017**, 495–512. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00025-1>.
- (112) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, 23 (1–3), 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).
- (113) Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H. Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* **2002**, 45 (12), 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/JM020017N>.
- (114) Wang, Y.; Zhang, W.; Dong, J.; Gao, J. Design, Synthesis and Bioactivity Evaluation of Coumarin-Chalcone Hybrids as Potential Anticancer Agents. *Bioorg. Chem.* **2020**, 95 (September 2019), 103530. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103530>.
- (115) Murillo, J. A.; Gil, J. F.; Upegui, Y. A.; Restrepo, A. M.; Robledo, S. M.; Quiñones, W.; Echeverri, F.; San Martin, A.; Olivo, H. F.; Escobar, G. Antileishmanial Activity and Cytotoxicity of Ent-Beyerene Diterpenoids. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, 27 (1), 153–160. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2018.11.030>.
- (116) Cuartas, V.; Robledo, S. M.; Vélez, I. D.; Crespo, M. del P.; Sortino, M.; Zacchino, S.; Nogueras, M.; Cobo, J.; Upegui, Y.; Pineda, T.; Yepes, L.; Insuasty, B. New Thiazolyl-Pyrazoline Derivatives Bearing Nitrogen Mustard as Potential Antimicrobial and Antiprotozoal Agents. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2020**, 353 (5), e1900351. <https://doi.org/10.1002/ARDP.201900351>.
- (117) Buckner, F. S.; Verlinde, C. L. M. J.; La Flamme, A. C.; Van Voorhis, W. C. Efficient Technique for Screening Drugs for Activity against *Trypanosoma Cruzi* Using Parasites Expressing Beta-Galactosidase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, 40 (11), 2592–2597. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.11.2592>.
- (118) Bosquiroli, L. S. S.; Demarque, D. P.; Rizk, Y. S.; Cunha, M. C.; Marques, M. C. S.; De Matos, M. F. C.; Kadri, M. C. T.; Carollo, C. A.; Arruda, C. C. P. In Vitro Anti-Leishmania Infantum Activity of Essential Oil from Piper Angustifolium. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2015**, 25 (2), 124–128. <https://doi.org/10.1016/J.BJP.2015.03.008>.

- (119) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Sci. Rep.* **2017**, *7*. <https://doi.org/10.1038/SREP42717>.
- (120) Himangini; Pathak, D. P.; Sharma, V.; Kumar, S. Designing Novel Inhibitors against Falcipain-2 of Plasmodium Falciparum. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28* (9), 1566–1569. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2018.03.058>.
- (121) Patra, S. K.; Manivannan, R.; Son, Y. A. Multicolor Emissive Organic Material to Display Aggregation Caused Red Shift with Dual State Emission, and Application towards Rewritable Data Storage. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2023**, *444*, 114945. <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOCHEM.2023.114945>.
- (122) Yang, F.; Fan, H.; Xue, Z.; Wang, X. Synthesis and Fluorescent Properties of Coumarin–Chalcone Hybrids. <https://doi.org/10.3184/174751917X15035711817504> **2017**, *41* (9), 534–536. <https://doi.org/10.3184/174751917X15035711817504>.
- (123) Moya-Alvarado, G.; Yañez, O.; Morales, N.; González-González, A.; Areche, C.; Núñez, M. T.; Fierro, A.; García-Beltrán, O. Coumarin-Chalcone Hybrids as Inhibitors of MAO-B: Biological Activity and In Silico Studies. *Mol.* **2021**, *Vol. 26*, Page 2430 **2021**, *26* (9), 2430. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26092430>.
- (124) Aliaga, M. E.; Tiznado, W.; Cassels, B. K.; Nuñez, M. T.; Millán, D.; Pérez, E. G.; García-Beltrán, O.; Pavez, P. Substituent Effects on Reactivity of 3-Cinnamoylcoumarins with Thiols of Biological Interest. *RSC Adv.* **2013**, *4* (2), 697–704. <https://doi.org/10.1039/C3RA44695F>.
- (125) Robledo-O’Ryan, N.; Moncada-Basualto, M.; Mura, F.; Olea-Azar, C.; Matos, M. J.; Vazquez-Rodriguez, S.; Santana, L.; Uriarte, E.; Moncada-Basualto, M.; Lapier, M.; Maya, J. D. Synthesis, Antioxidant and Antichagasic Properties of a Selected Series of Hydroxy-3-Arylcoumarins. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25* (2), 621–632. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2016.11.033>.
- (126) Maclel-Rezende, C. M.; De Almeida, L.; Costa, É. D. M.; Pires, F. R.; Alves, K. F.; Junior, C. V.; Dias, D. F.; Doriguetto, A. C.; Marques, M. J.; Dos Santos, M. H. Synthesis and Biological Evaluation against Leishmania Amazonensis of a Series of Alkyl-Substituted Benzophenones. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21* (11), 3114–3119. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2013.03.045>.

- (127) Gonçalves, G. A.; Spillere, A. R.; das Neves, G. M.; Kagami, L. P.; von Poser, G. L.; Canto, R. F. S.; Eifler-Lima, V. L. Natural and Synthetic Coumarins as Antileishmanial Agents: A Review. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *203*, 112514. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2020.112514>.
- (128) El Khatabi, K.; Aanouz, I.; Aouidate, A.; Ghaleb, A.; Abdelaziz Ajana, M.; Bouachrine, M.; Lakhlifi, T. QSAR Studies of the 4-Fluorobenzyl L-Valinate Amide Benzoxaborole (AN11736) Derivatives against Trypanosoma. *RHAZES Green Appl. Chem.* **2019**, *4* (4), 51–64. <https://doi.org/10.48419/IMIST.PRSM/RHAZES-V4.16203>.
- (129) Lipinski, C. A. Lead- and Drug-like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discov. Today Technol.* **2004**, *1* (4), 337–341. <https://doi.org/10.1016/J.DDTEC.2004.11.007>.
- (130) Yoshida, K.; Shigeoka, T.; Yamauchi, F. Relationship between Molar Refraction and N-Octanol/Water Partition Coefficient. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **1983**, *7* (6), 558–565. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(83\)90015-5](https://doi.org/10.1016/0147-6513(83)90015-5).
- (131) Daunes, S.; D'Silva, C.; Kendrick, H.; Yardley, V.; Croft, S. L. QSAR Study on the Contribution of Log P and Es to the in Vitro Antiprotozoal Activity of Glutathione Derivatives. *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (18), 2976–2983. <https://doi.org/10.1021/JM000502N/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JM000502NN00001.GIF>.
- (132) Prasanna, S.; Doerksen, R. J. Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR. *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16* (1), 21. <https://doi.org/10.2174/092986709787002817>.
- (133) Liu, M.; Wilairat, P.; Go, M. L. Antimalarial Alkoxyated and Hydroxylated Chalcones: Structure-Activity Relationship Analysis. *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (25), 4443–4452. https://doi.org/10.1021/JM0101747/SUPPL_FILE/JM0101747_S.PDF.
- (134) Chan, C.; Yin, H.; Garforth, J.; McKie, J. H.; Jaouhari, R.; Speers, P.; Douglas, K. T.; Rock, P. J.; Yardley, V.; Croft, S. L.; Fairlamb, A. H. Phenothiazine Inhibitors of Trypanothione Reductase as Potential Antitrypanosomal and Antileishmanial Drugs. *J. Med. Chem.* **1998**, *41* (2), 148–156. https://doi.org/10.1021/JM960814J/SUPPL_FILE/JM148.PDF.

- (135) Turabekova, M. A.; Rasulev, B. F. A QSAR Toxicity Study of a Series of Alkaloids with the Lycoponine Skeleton. *Mol.* **2004**, *Vol. 9*, Pages 1194-1207 **2004**, 9 (12), 1194–1207. <https://doi.org/10.3390/91201194>.
- (136) García, E.; Ochoa, R.; Vásquez, I.; Conesa-Milián, L.; Carda, M.; Yepes, A.; Vélez, I. D.; Robledo, S. M.; Cardona-G, W. Furanchalcone–Biphenyl Hybrids: Synthesis, in Silico Studies, Antitrypanosomal and Cytotoxic Activities. *Med. Chem. Res.* **2019**, *28* (4), 608–622. <https://doi.org/10.1007/S00044-019-02323-7/METRICS>.
- (137) Ibrahim, Z. Y.; Uzairu, A.; Shallangwa, G. A.; Abechi, S. E. Application of QSAR Method in the Design of Enhanced Antimalarial Derivatives of Azetidine-2-Carbonitriles, Their Molecular Docking, Drug-Likeness, and SwissADME Properties. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2021**, *20* (3), 254–270. <https://doi.org/10.22037/IJPR.2021.114536.14901>.

11. ANEXOS

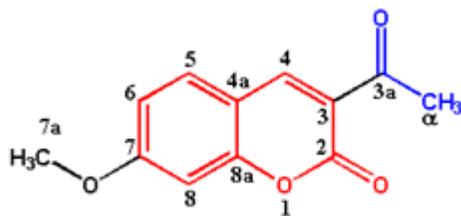


Figura 29. Estructura del compuesto 3-acetil-7-metoxi cumarina (H_{20})

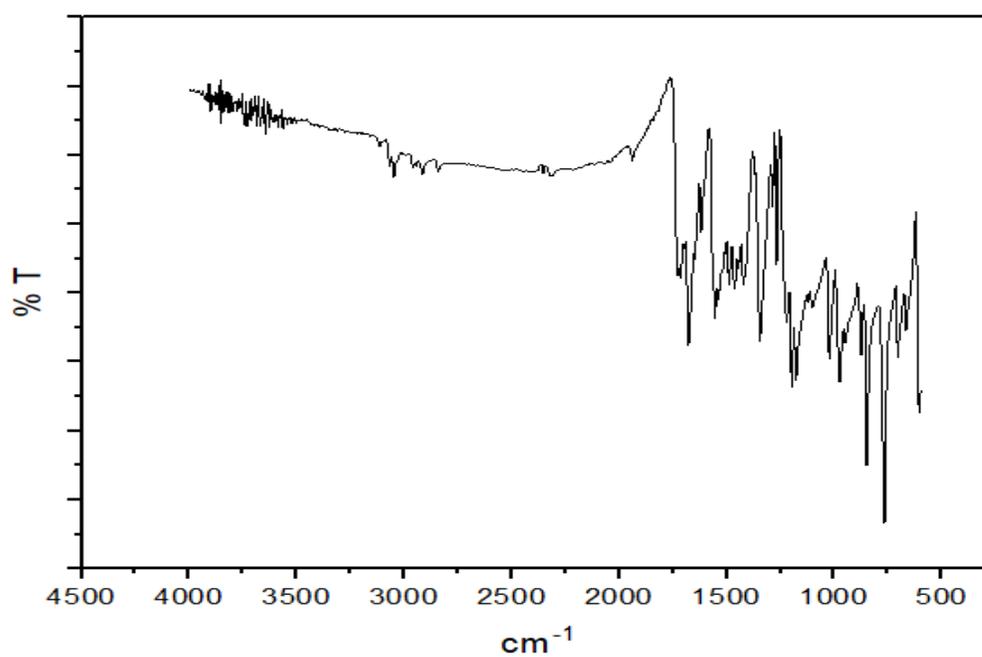


Figura 30. Espectro IR del compuesto H_{20}

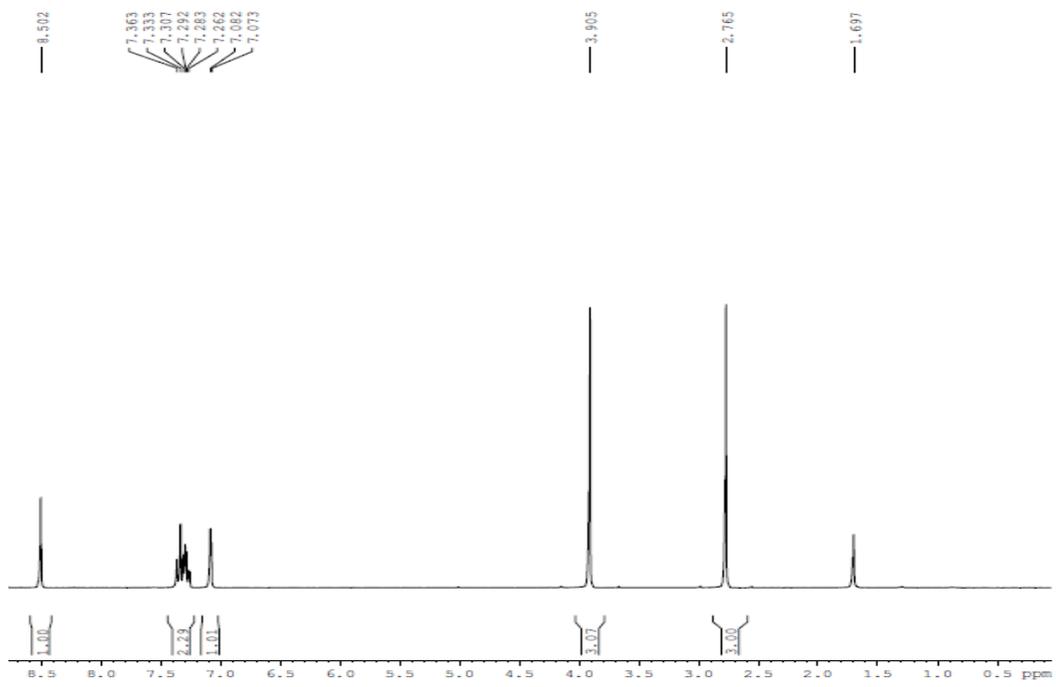


Figura 31. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{20}

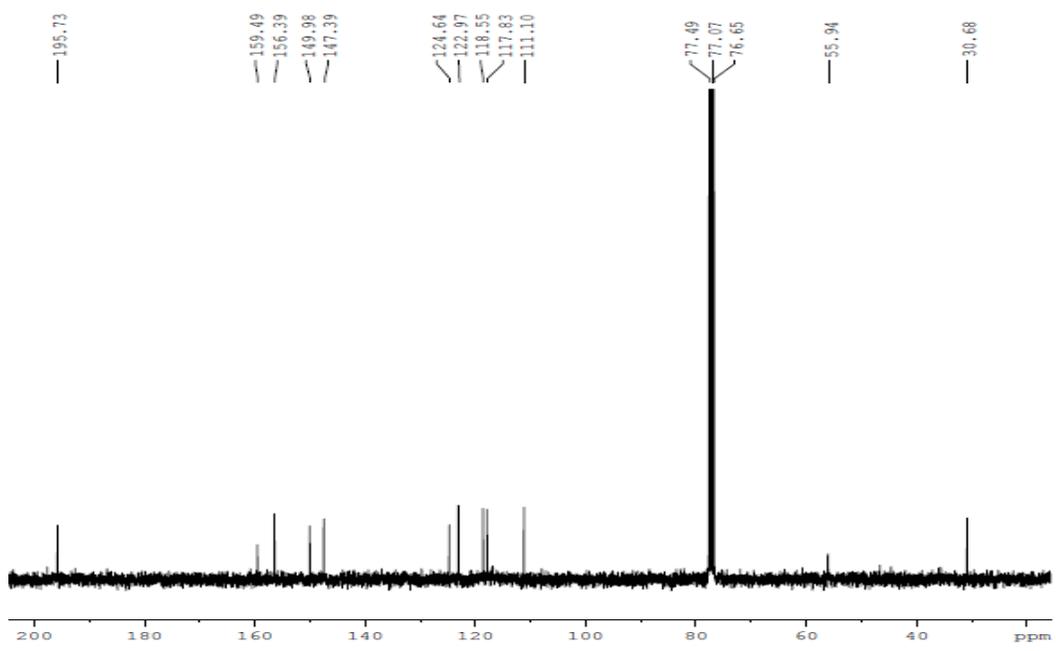


Figura 32. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{20}

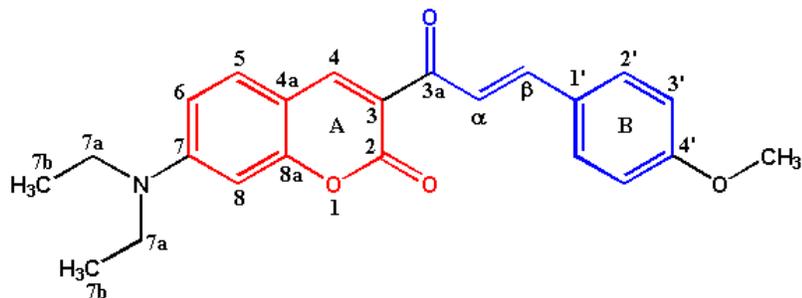


Figura 33. Estructura del compuesto (*E*)-7-(dietilamino)-3-[4-(metoxifenil)acrilolil]-2H-cromen-2-ona (**H₁₂**)

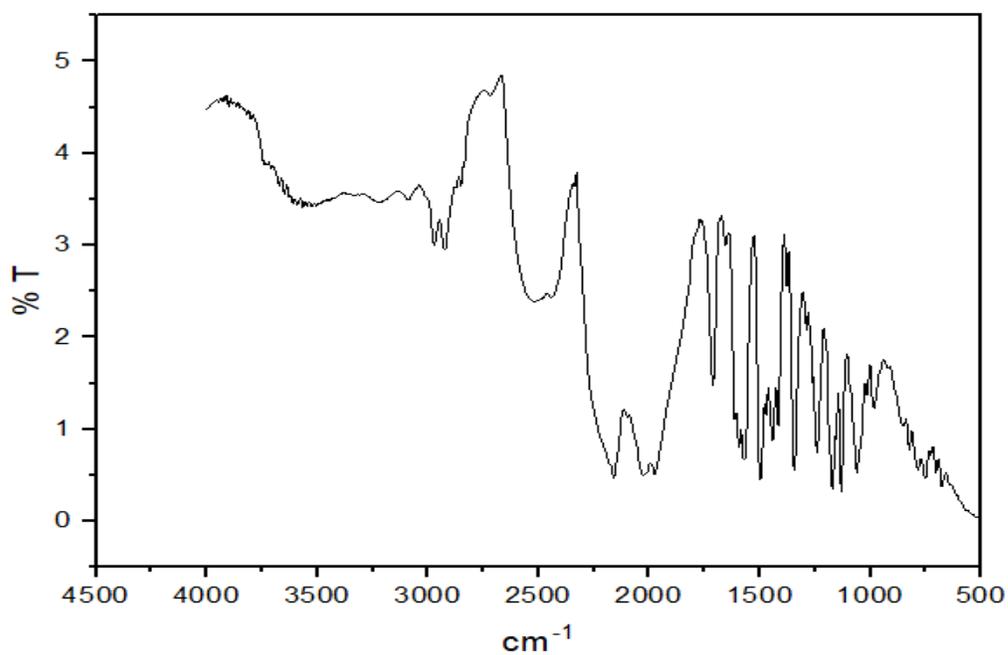


Figura 34. Espectro IR del compuesto **H₁₂**

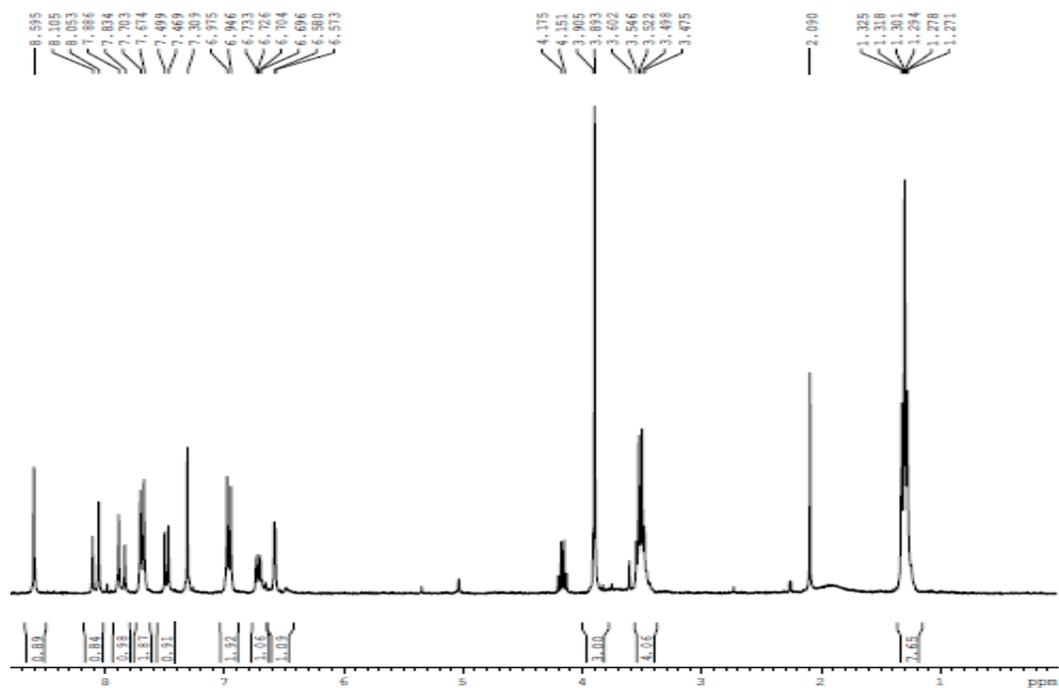


Figura 35. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{12}

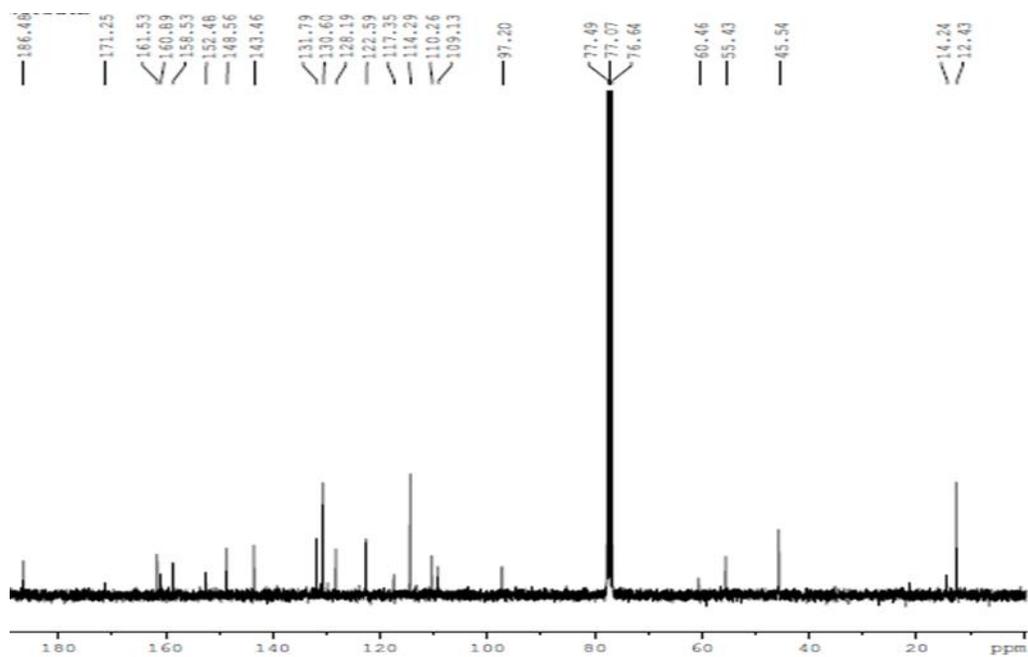


Figura 36. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{12}

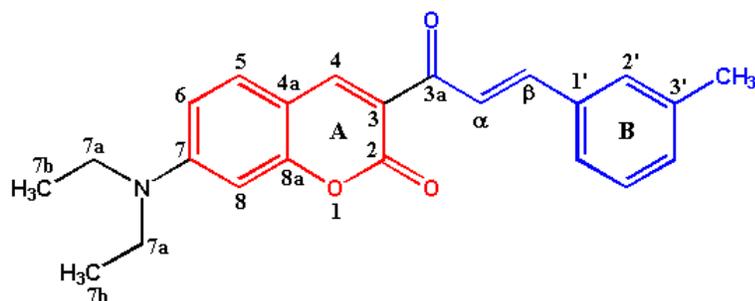


Figura 37. Estructura del compuesto (*E*)-7-(dietilamino)-3-[3-*m*-tolil]acriloil]-2H-cromen-2-ona (**H₁₃**)

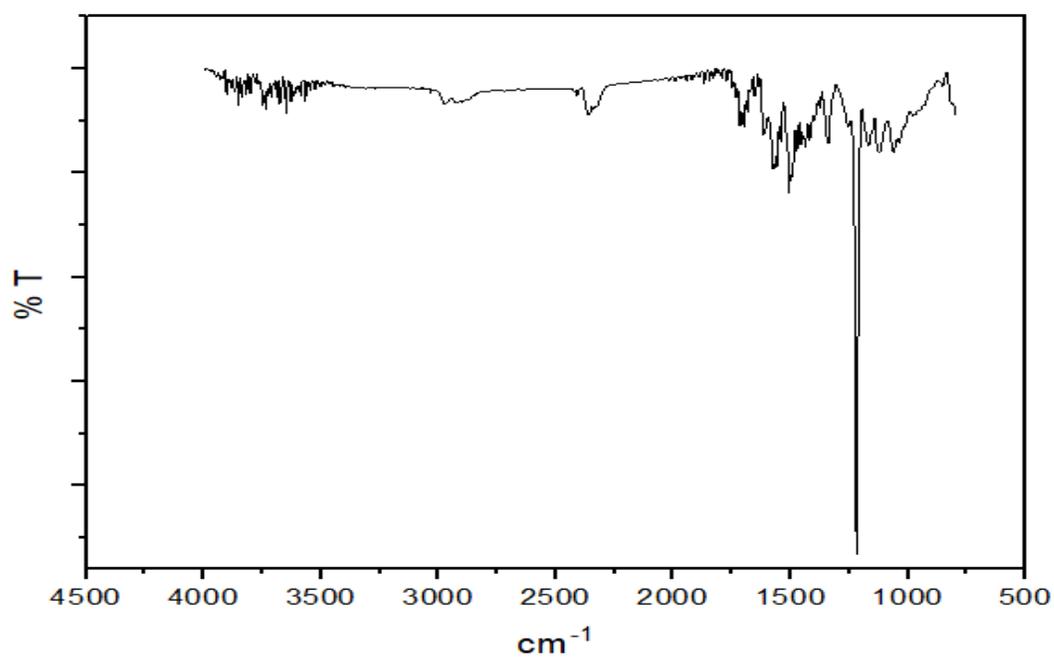


Figura 38. Espectro IR del compuesto **H₁₃**

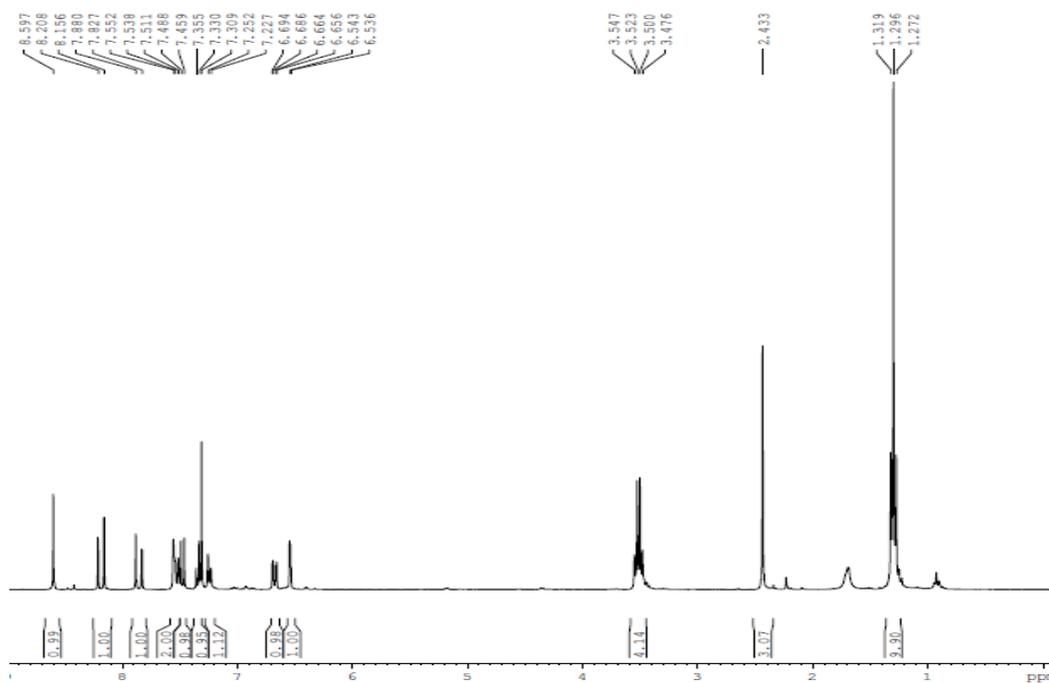


Figura 39. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{13}

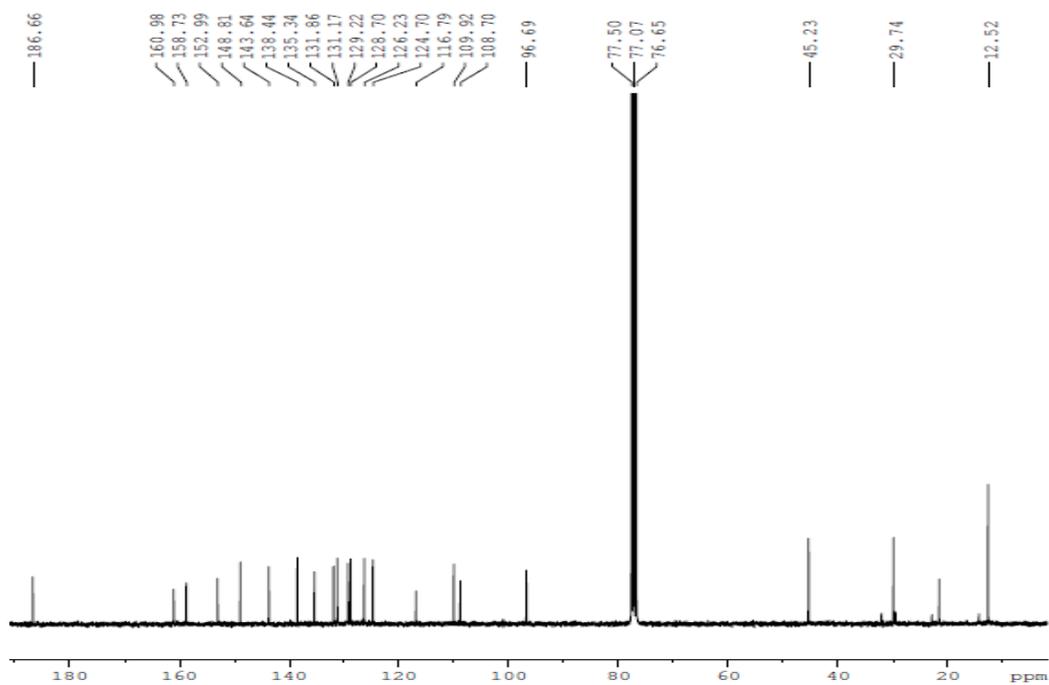


Figura 40. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{13}

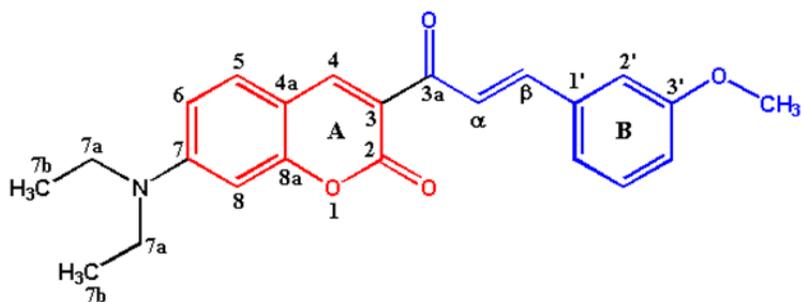


Figura 41. Estructura del compuesto (*E*)-7-(dietilamino)-3-[3-(metoxifenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (**H₁₄**)

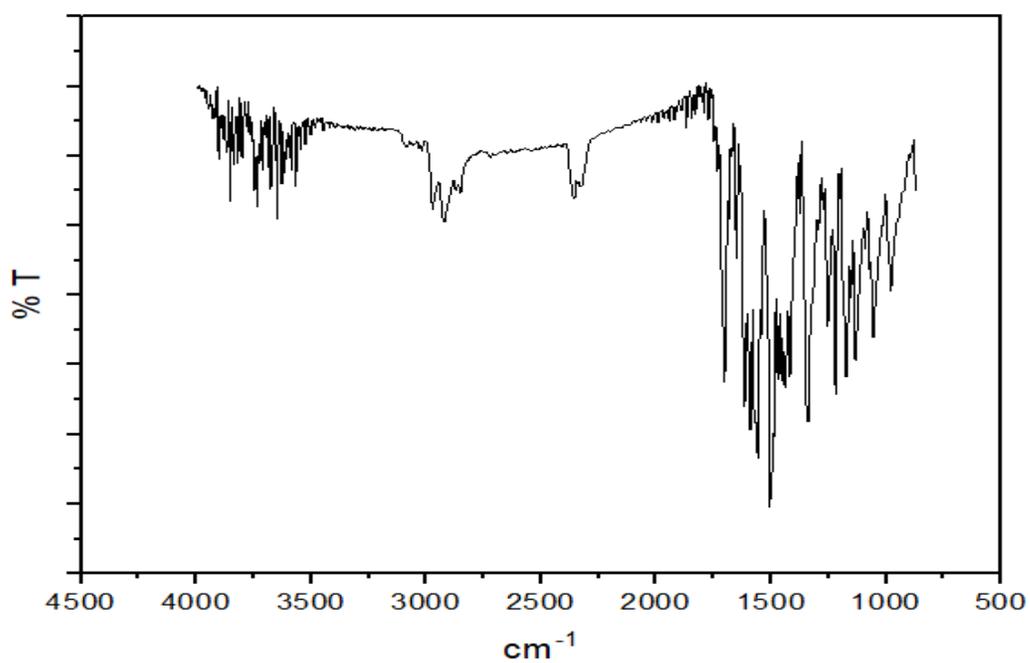


Figura 42. Espectro IR del compuesto **H₁₄**

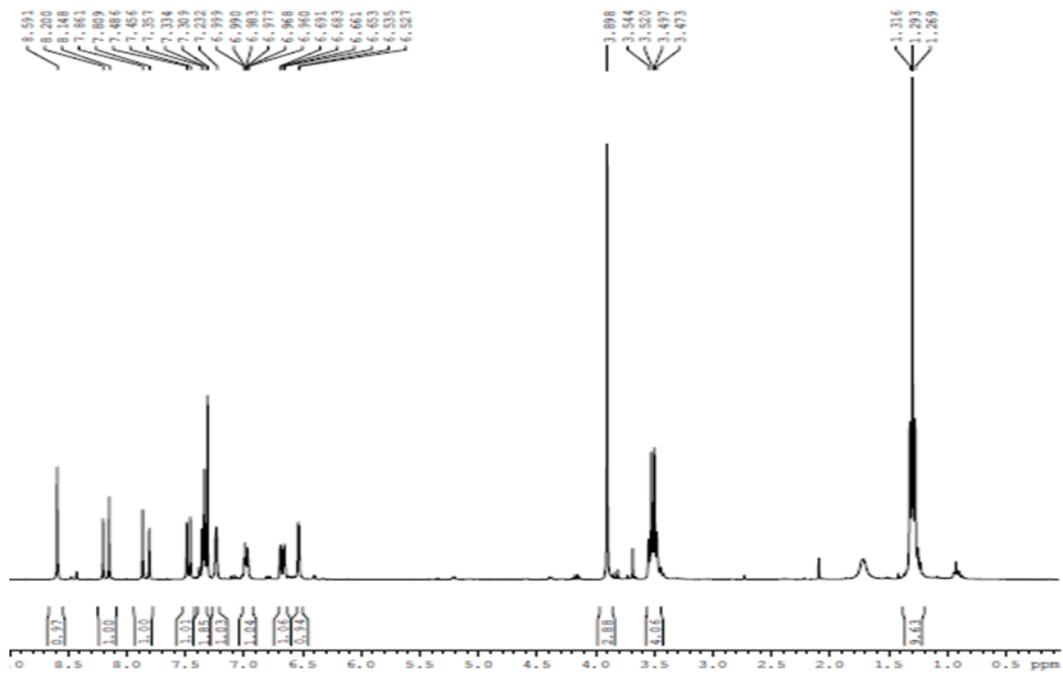


Figura 43. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{14}

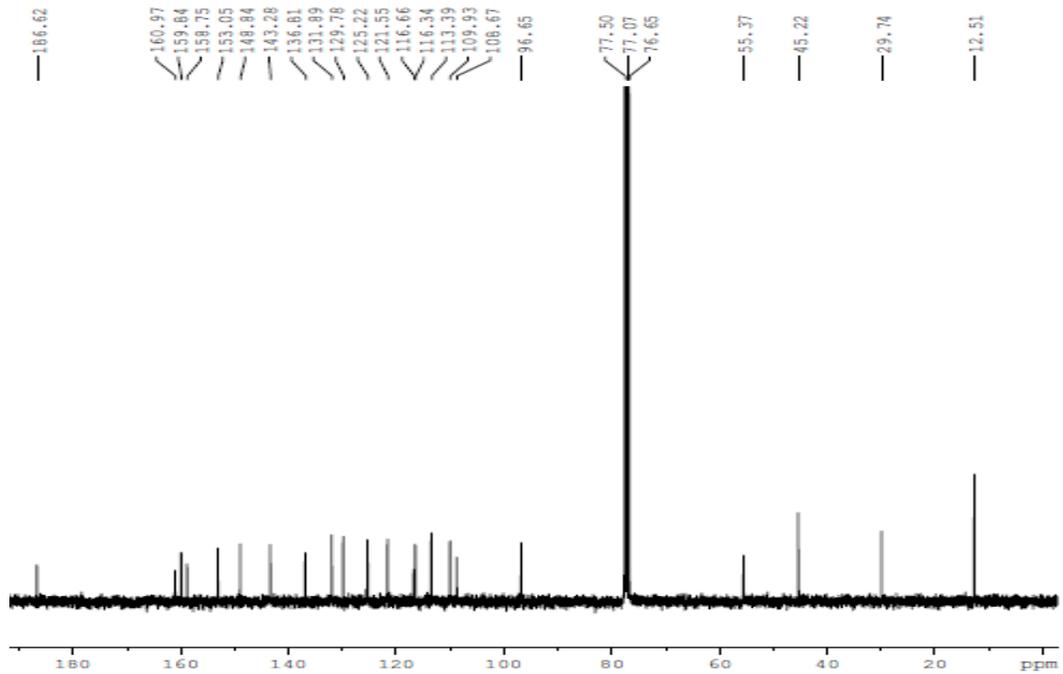


Figura 44. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{14}

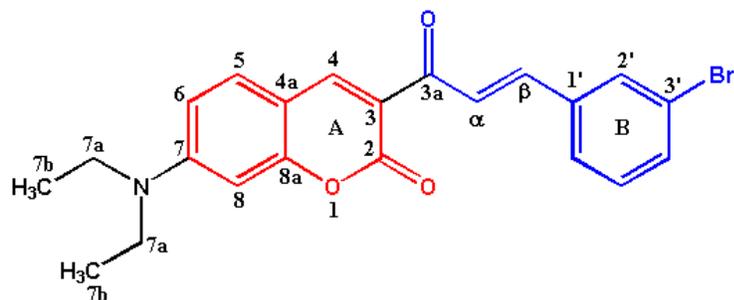


Figura 45. Estructura del compuesto (*E*)-3-[3-(3-bromofenil)acroloil]-7-(diethylamino)-2H-cromen-2-ona (**H₁₅**)

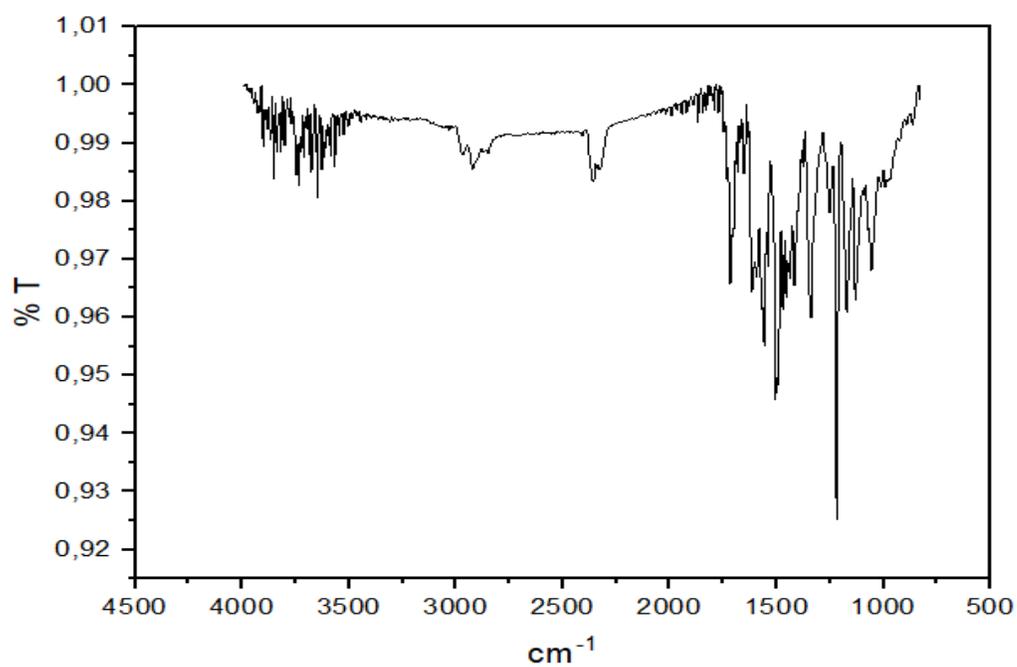


Figura 46. Espectro IR del compuesto **H₁₅**

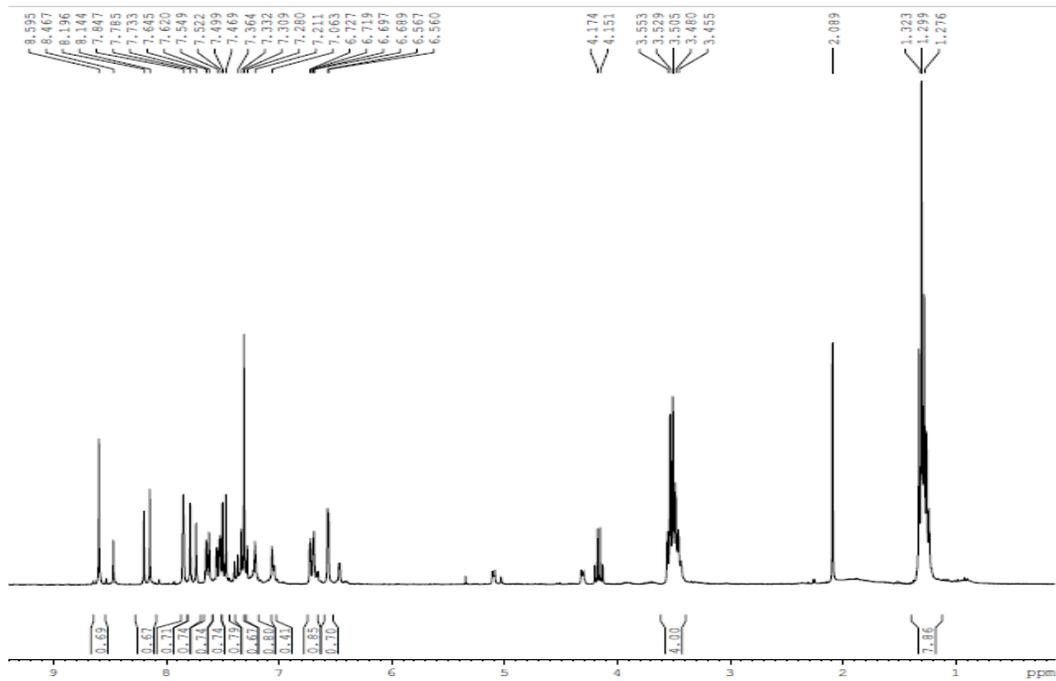


Figura 47. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{15}

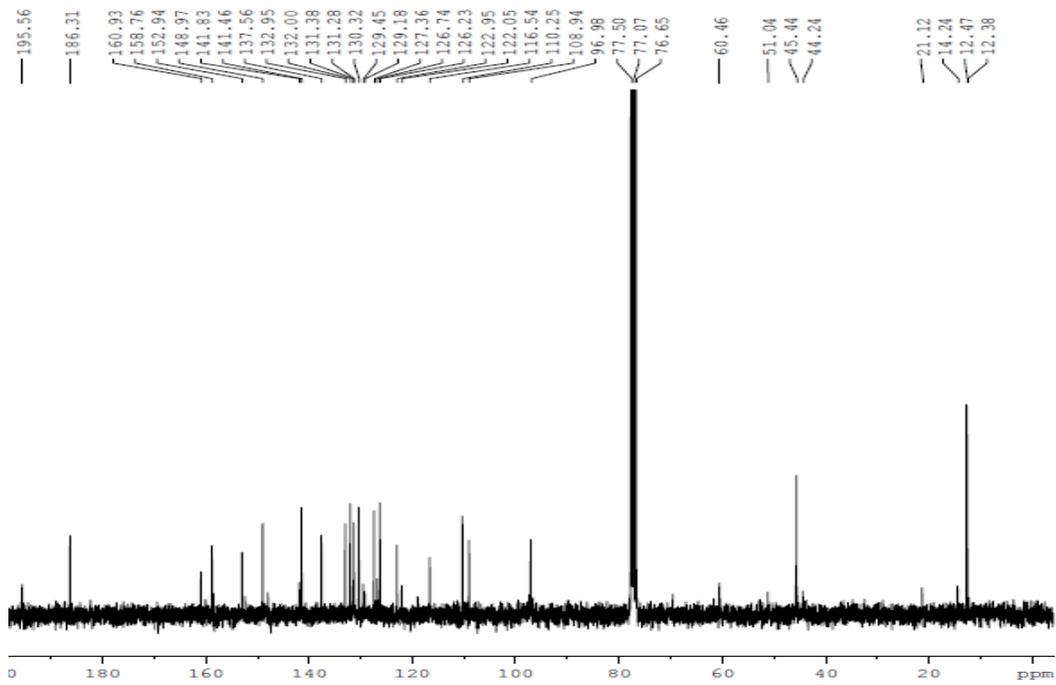


Figura 48. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{15}

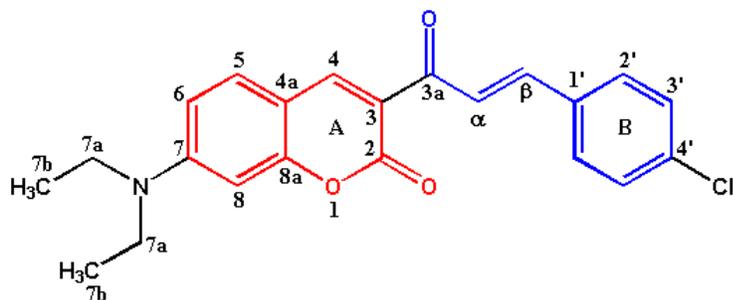


Figura 49. Estructura del compuesto (*E*)-3-[3-(4-clorofenil)acrilolil]-7-(dietilamino)-2H-cromen-2-ona (**H₁₆**)

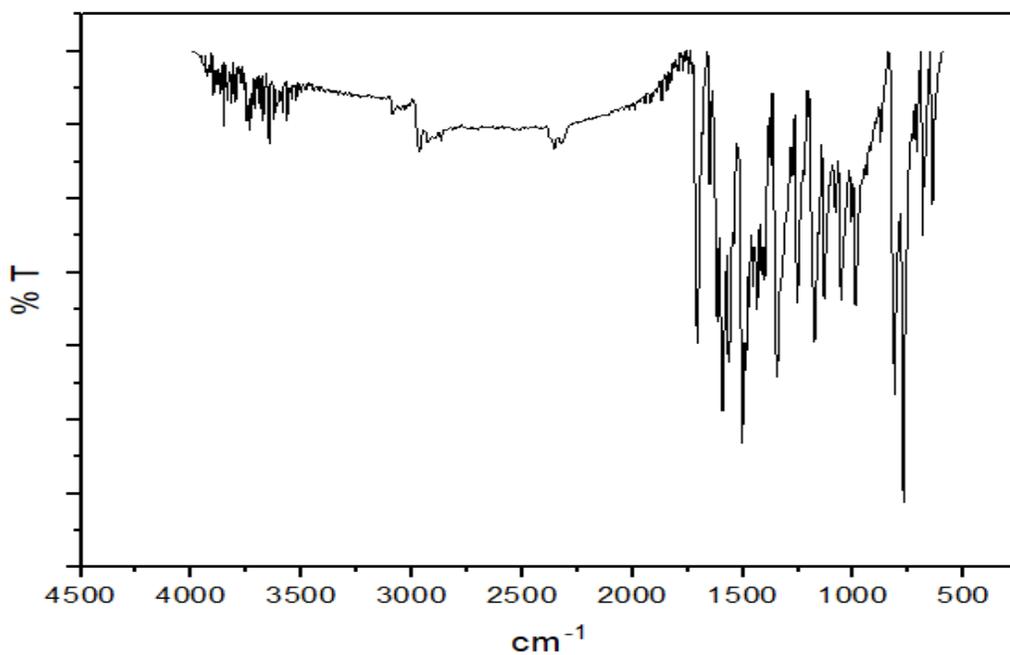


Figura 50. Espectro IR del compuesto **H₁₆**

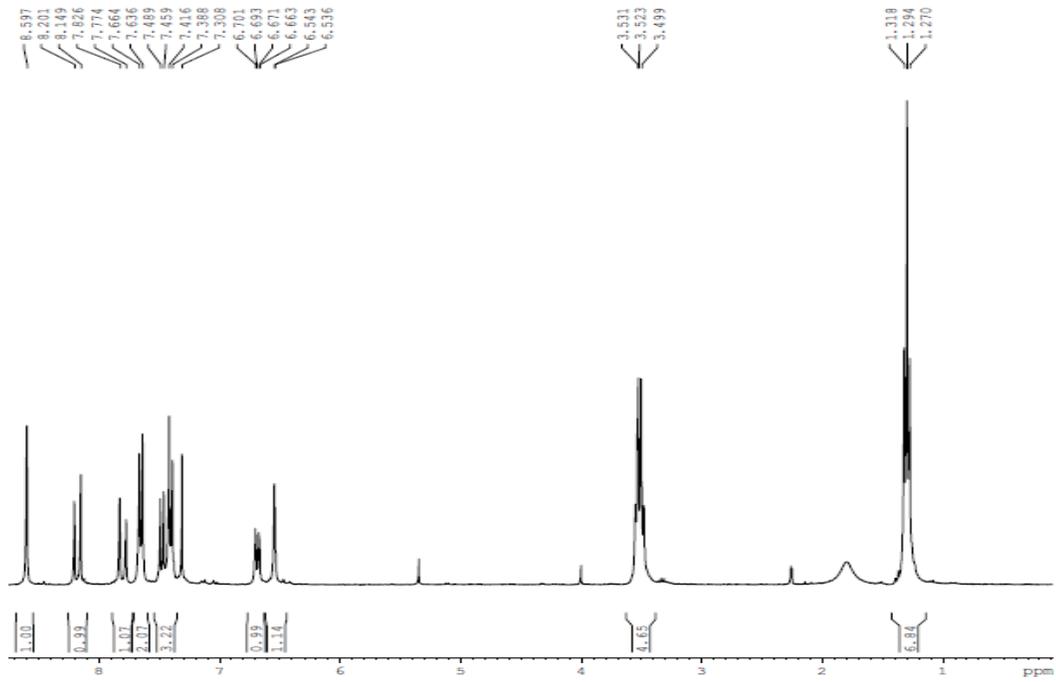


Figura 51. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{16}

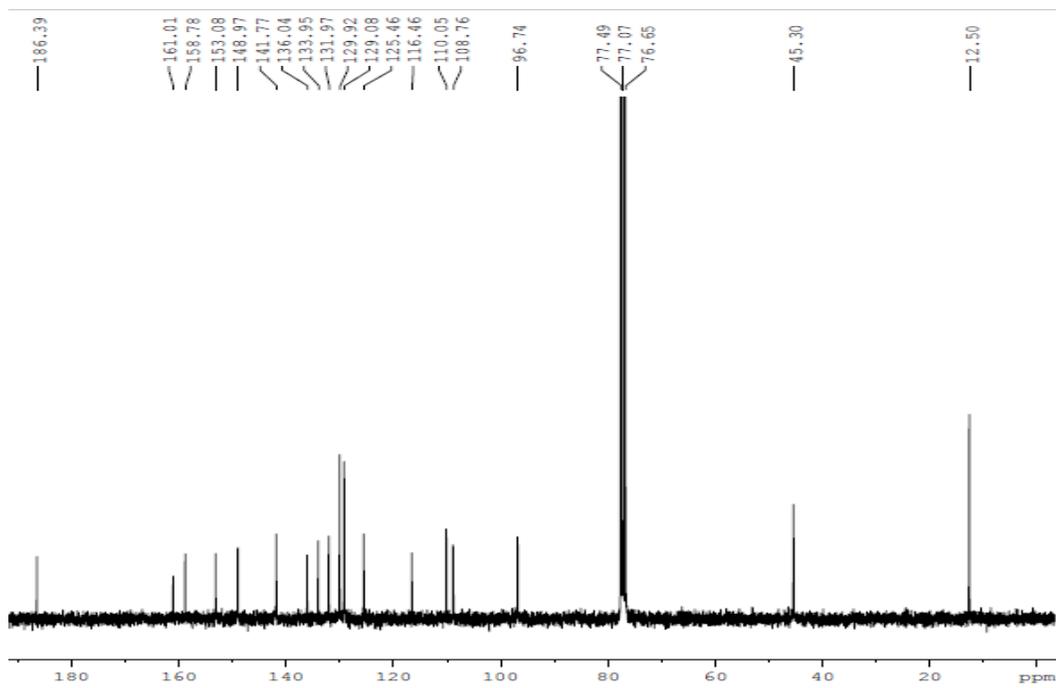


Figura 52. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{16}

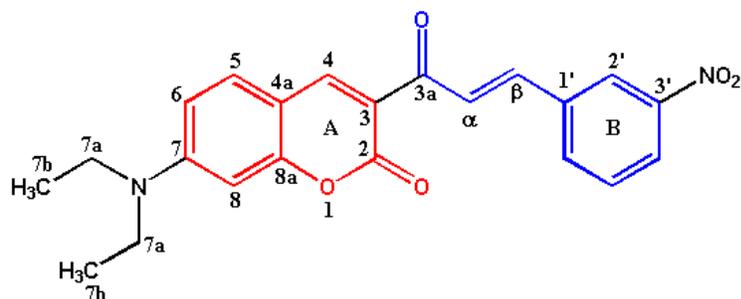


Figura 53. Estructura del compuesto (*E*)-7-(dietilamino)-3-[3-(3-nitrofenil)acrilolil]-2H-cromen-2-ona (**H₁₇**)

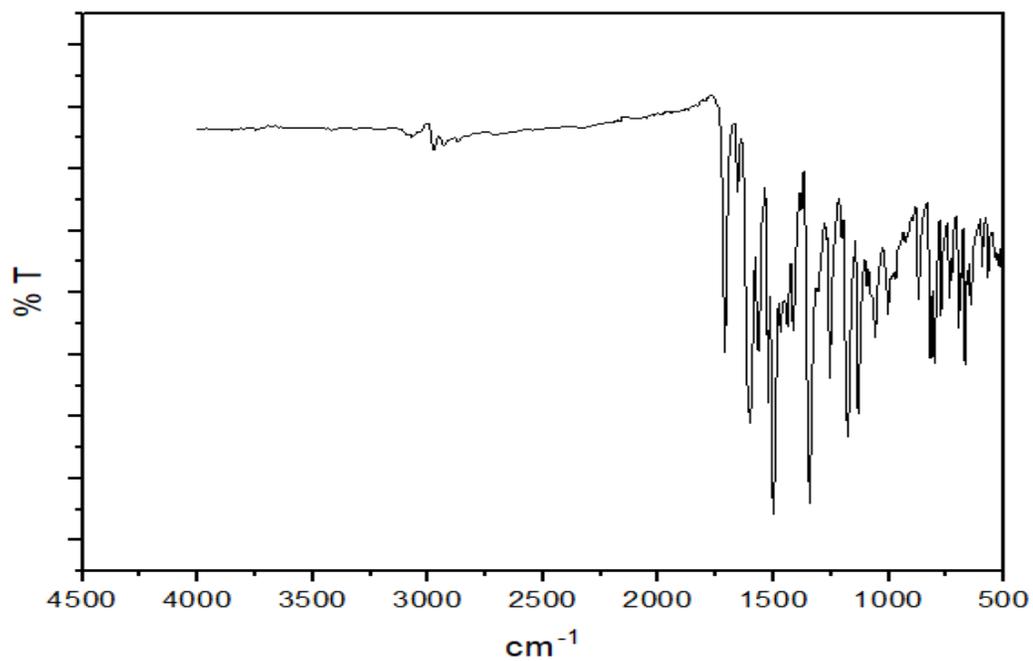


Figura 54. Espectro IR del compuesto **H₁₇**

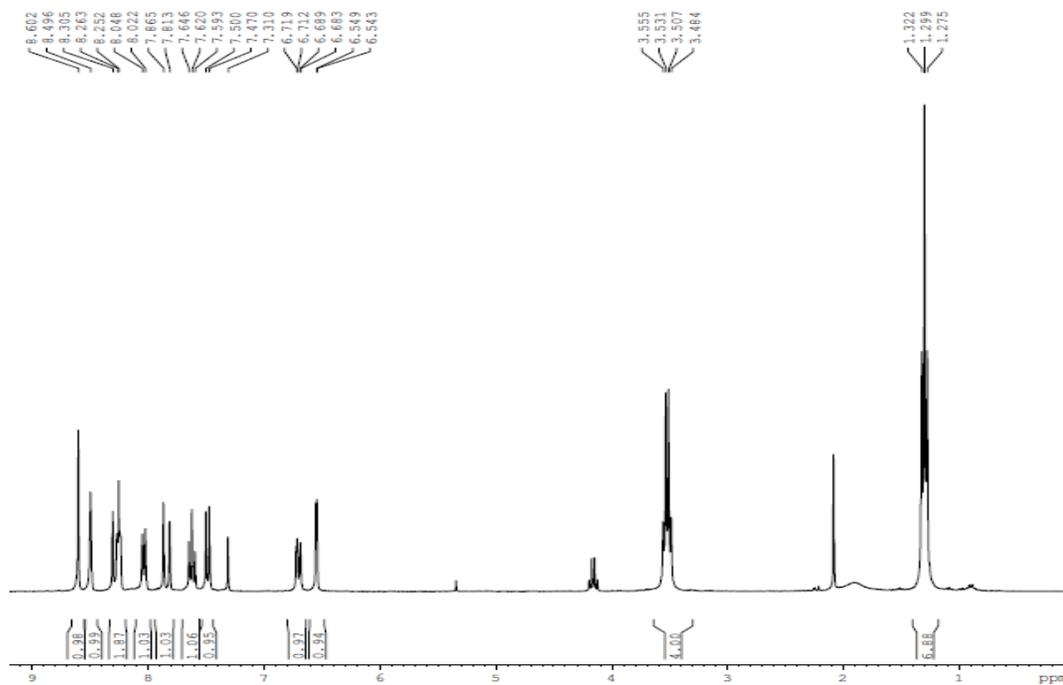


Figura 55. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{17}

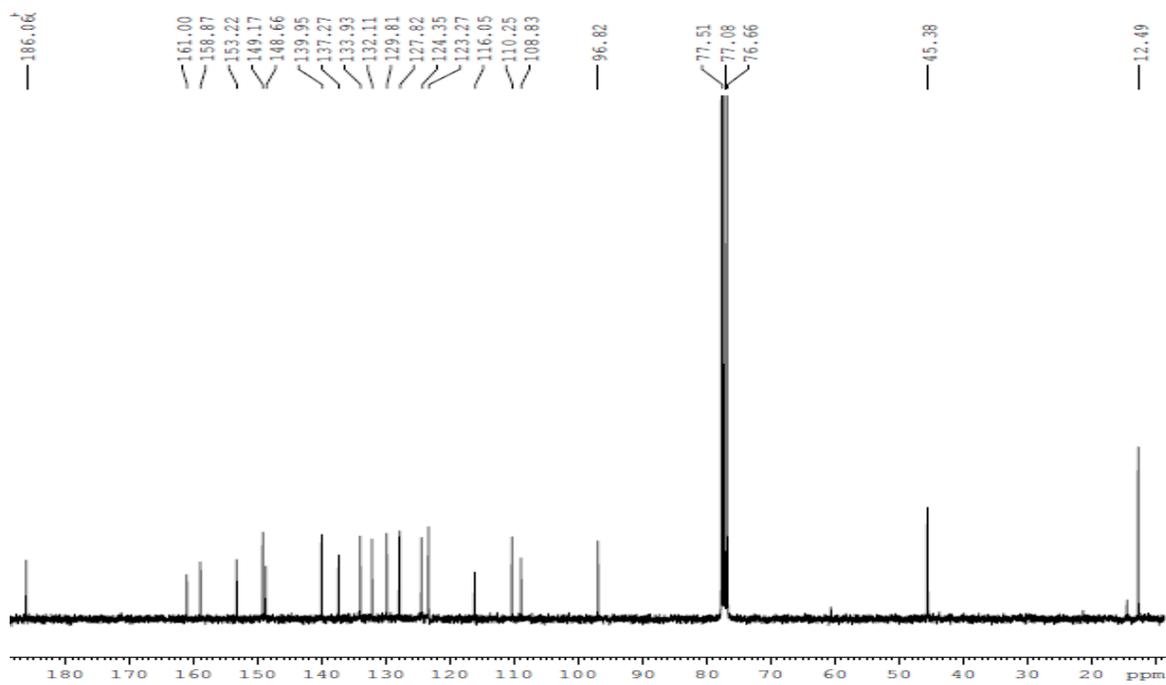


Figura 56. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{17}

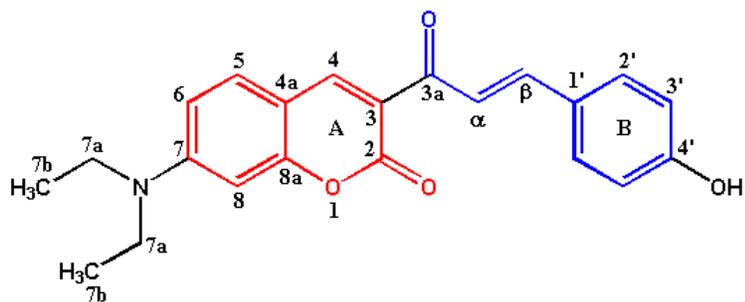


Figura 57. Estructura del compuesto (*E*)-7-(dietilamino)-3-[3-(4-hidroxifenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (**H₁₈**)

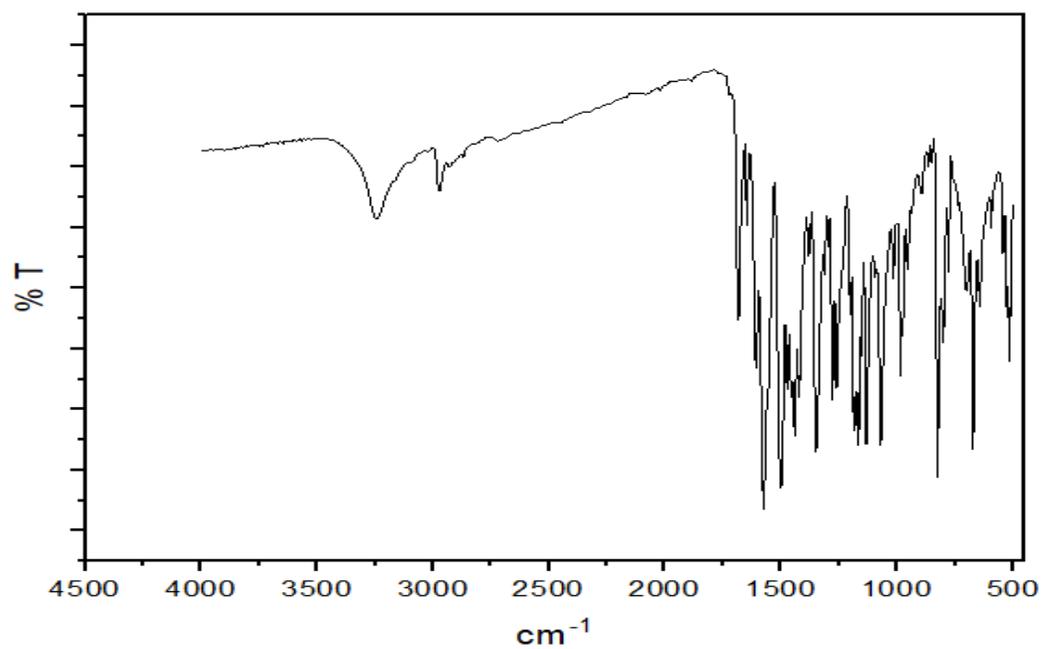


Figura 58. Espectro IR del compuesto **H₁₈**

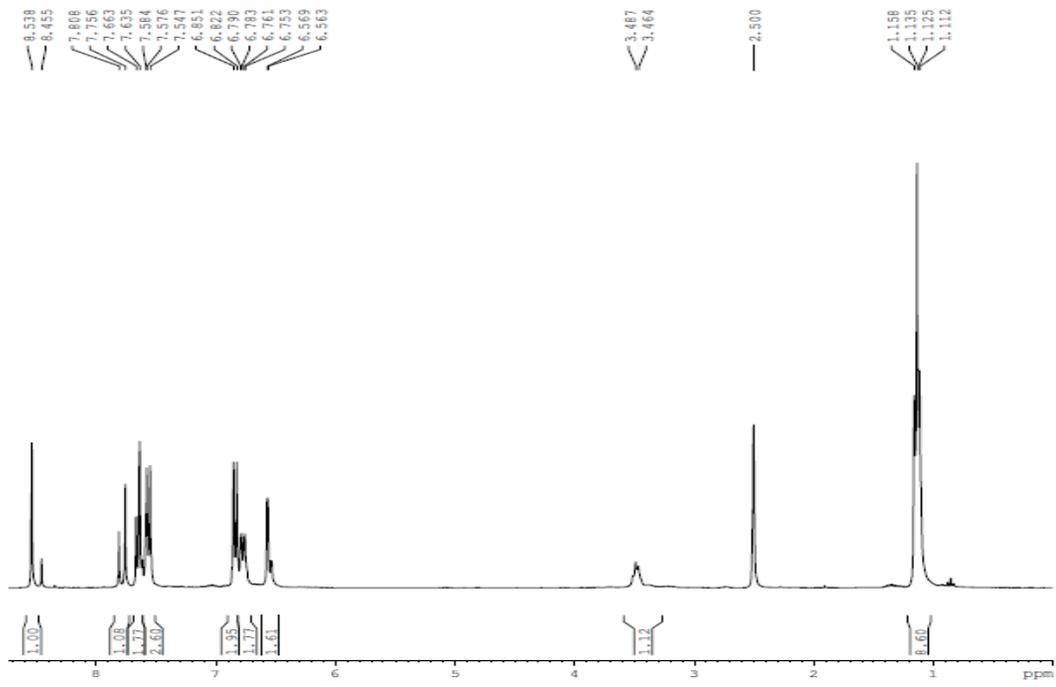


Figura 59. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{18}

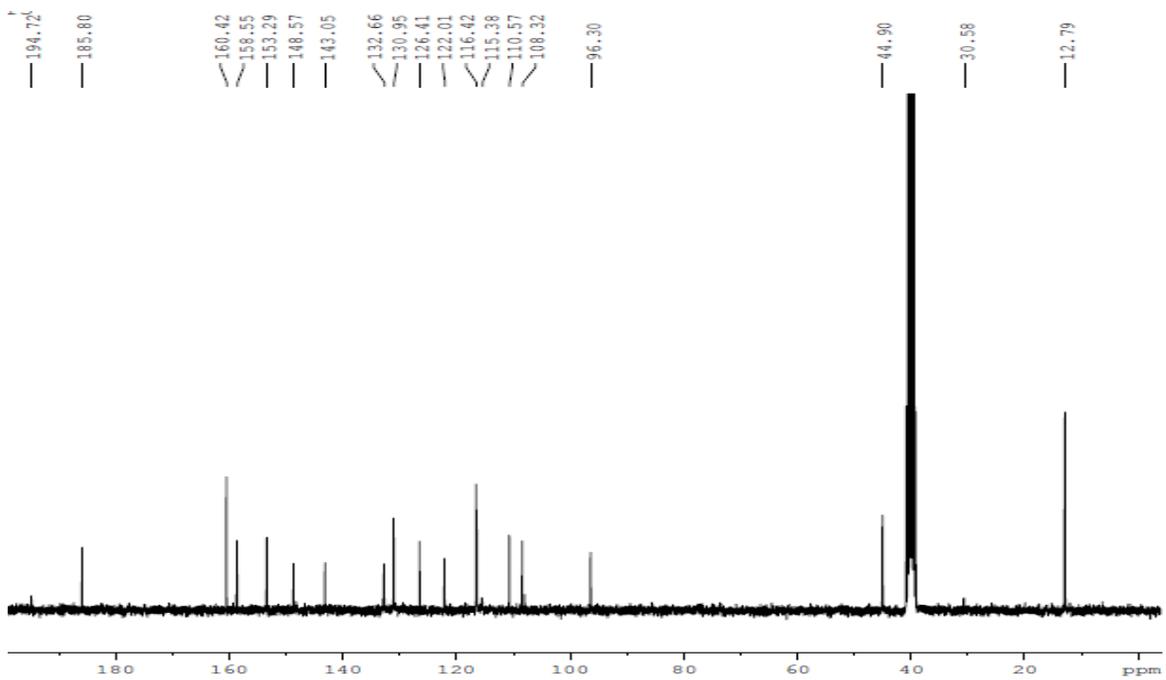


Figura 60. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{18}

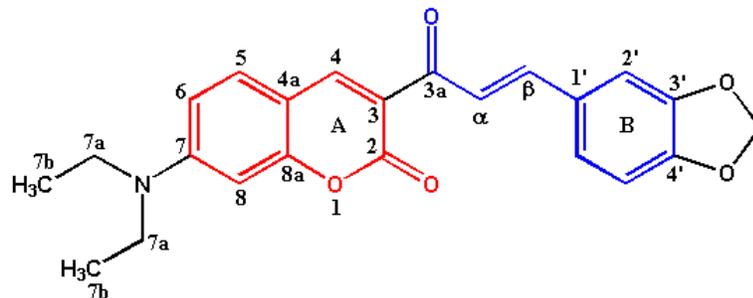


Figura 61. Estructura del compuesto (*E*)-3-[3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acriloil]-7-(dietilamino)-2H cromen-2-ona (**H₁₉**)

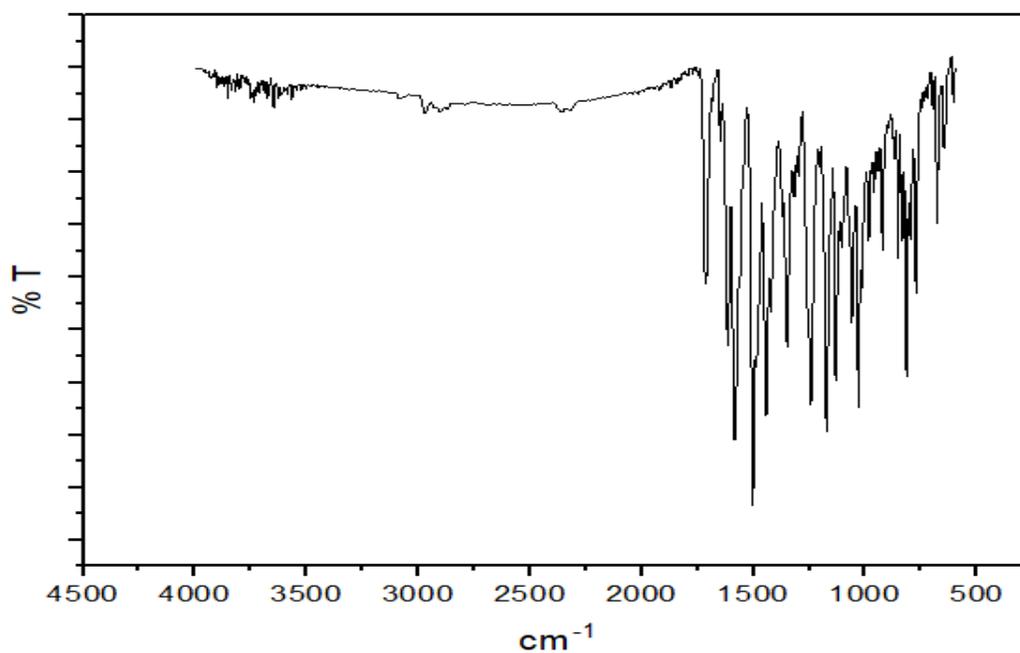


Figura 62. Espectro IR del compuesto **H₁₉**

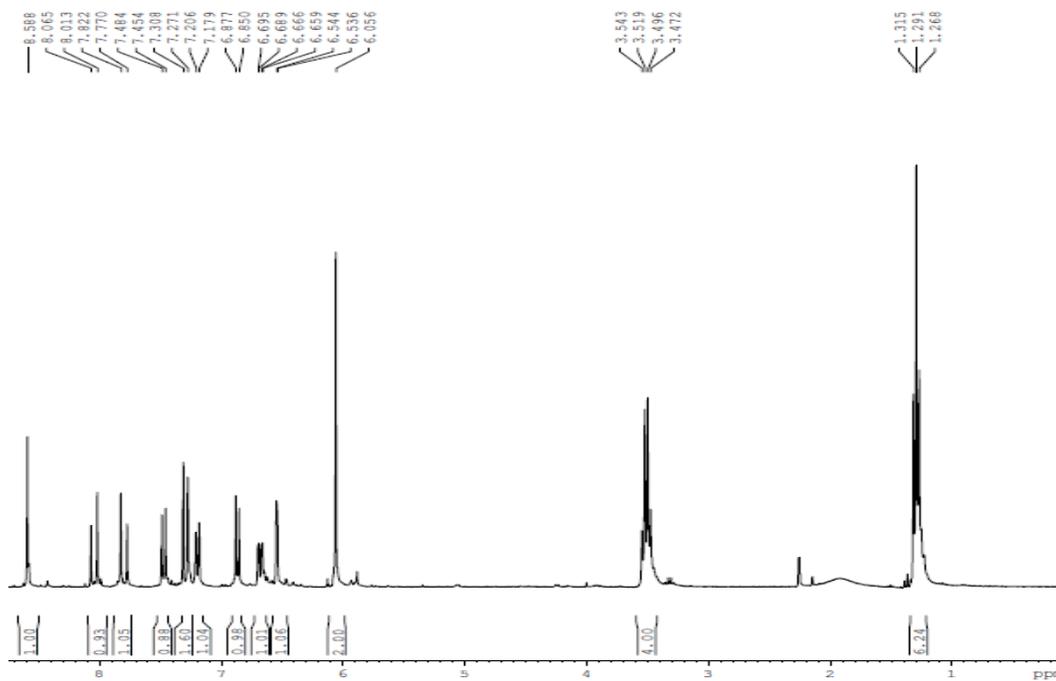


Figura 63. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{19}

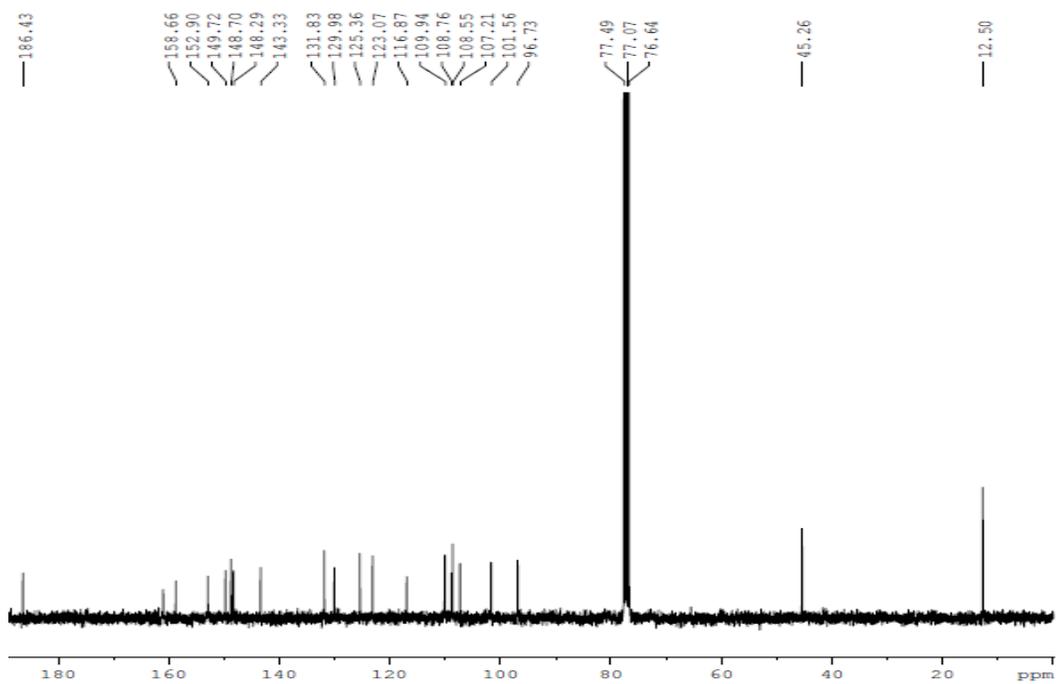


Figura 64. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{19}

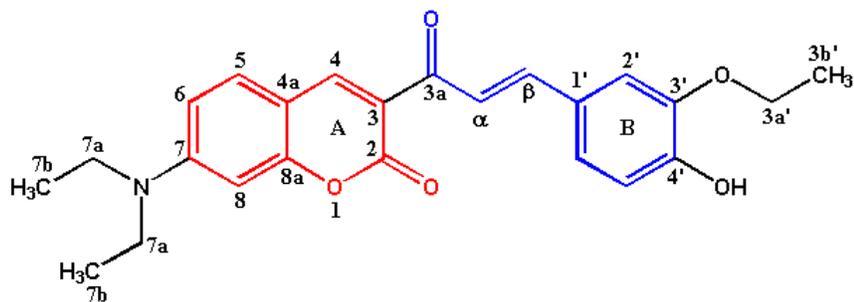


Figura 65. Estructura del compuesto (*E*)-7-(dietilamino)-3-[3-(3-etoxi-4-hidroxifenil)acrilóil]-2H-cromen-2-ona (**H₁₁₀**)

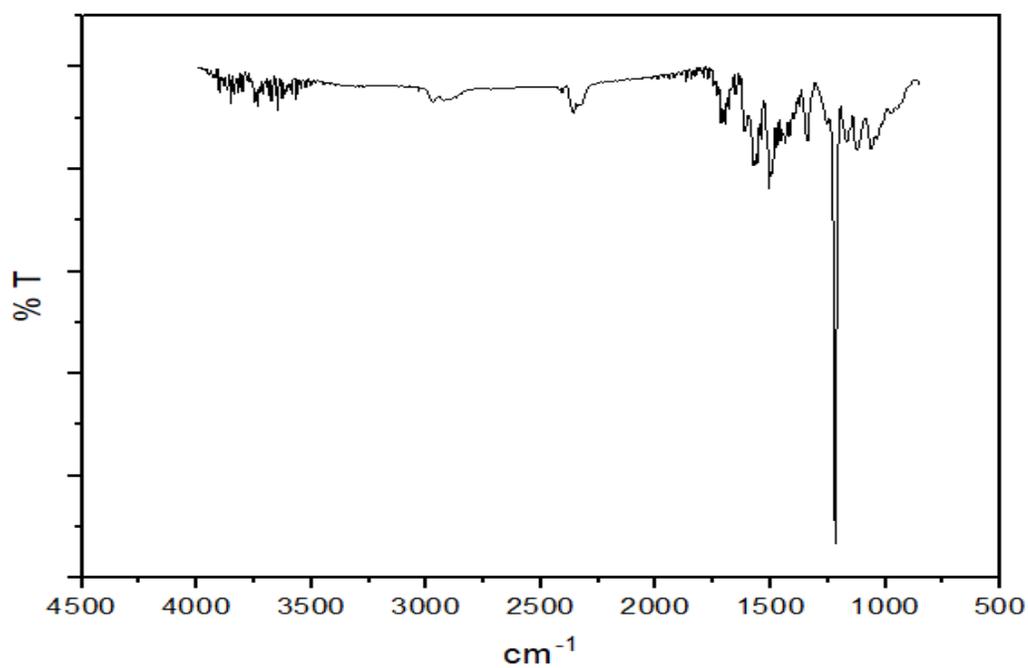


Figura 66. Espectro IR del compuesto **H₁₁₀**

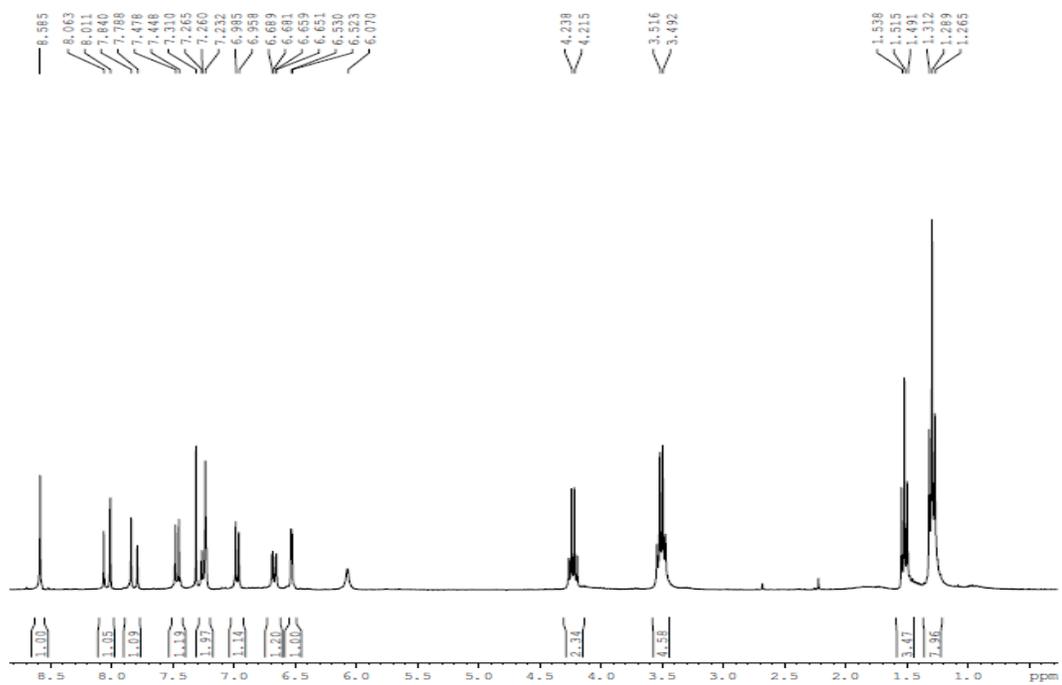


Figura 67. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{110}

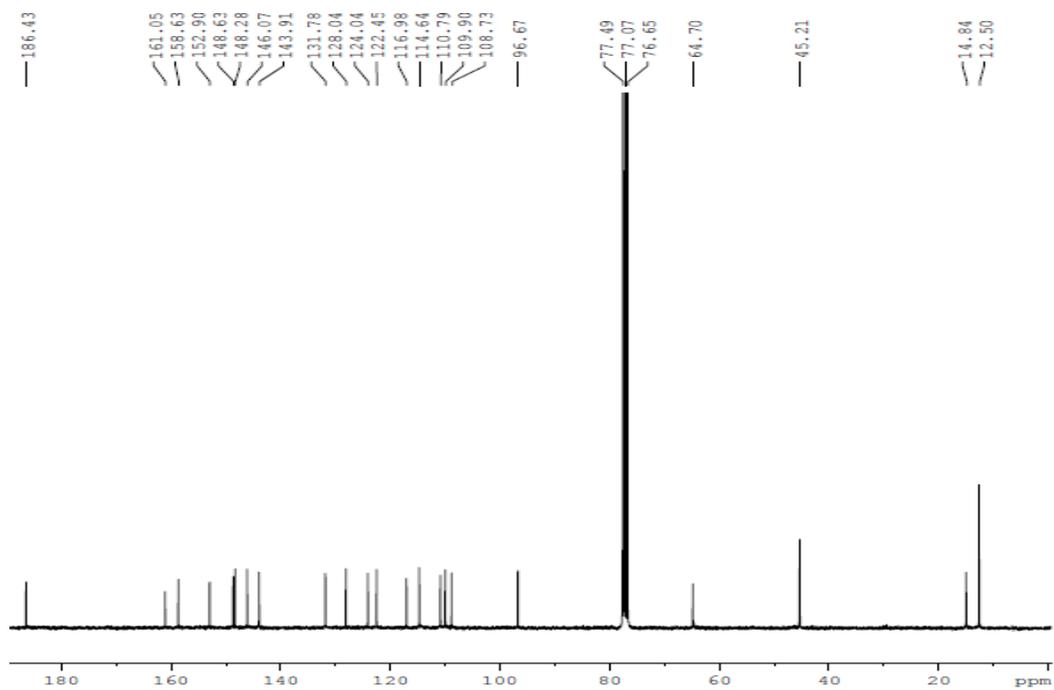


Figura 68. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{110}

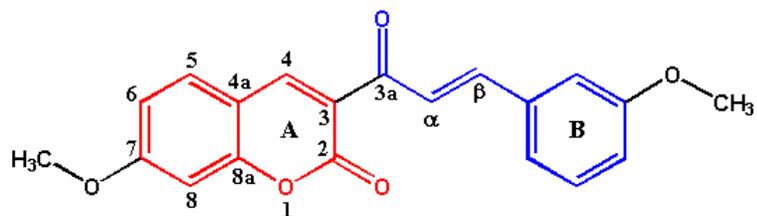


Figura 69. Estructura del compuesto (*E*)-7-metoxi-3-[3-(3-metoxifenil)acriolil]-2H-cromen-2-ona (H₂₁)

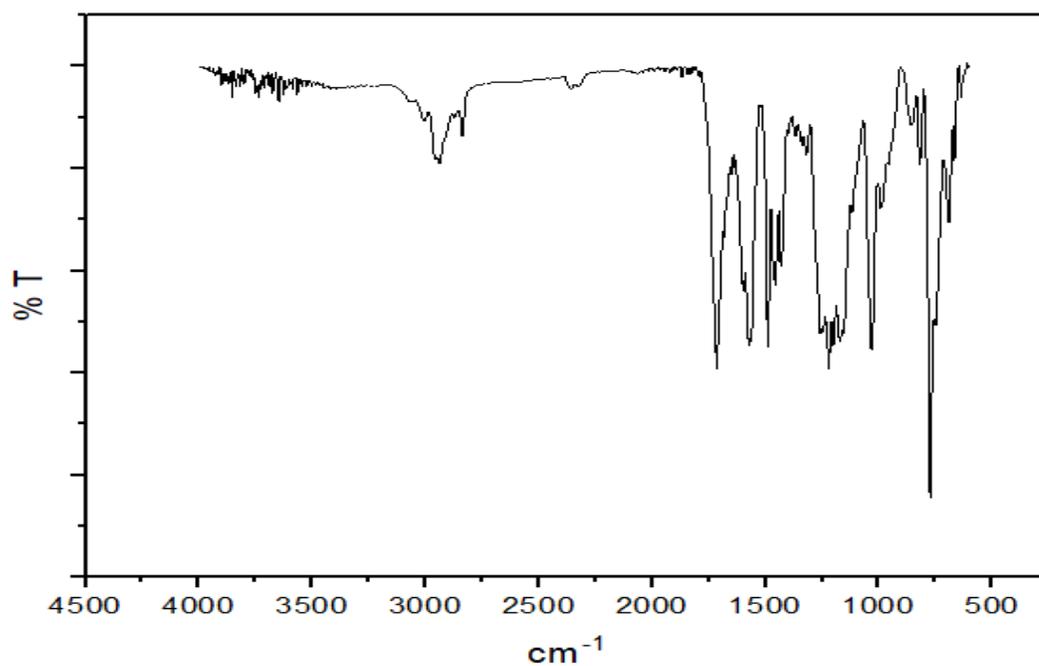


Figura 70. Espectro IR del compuesto H₂₁

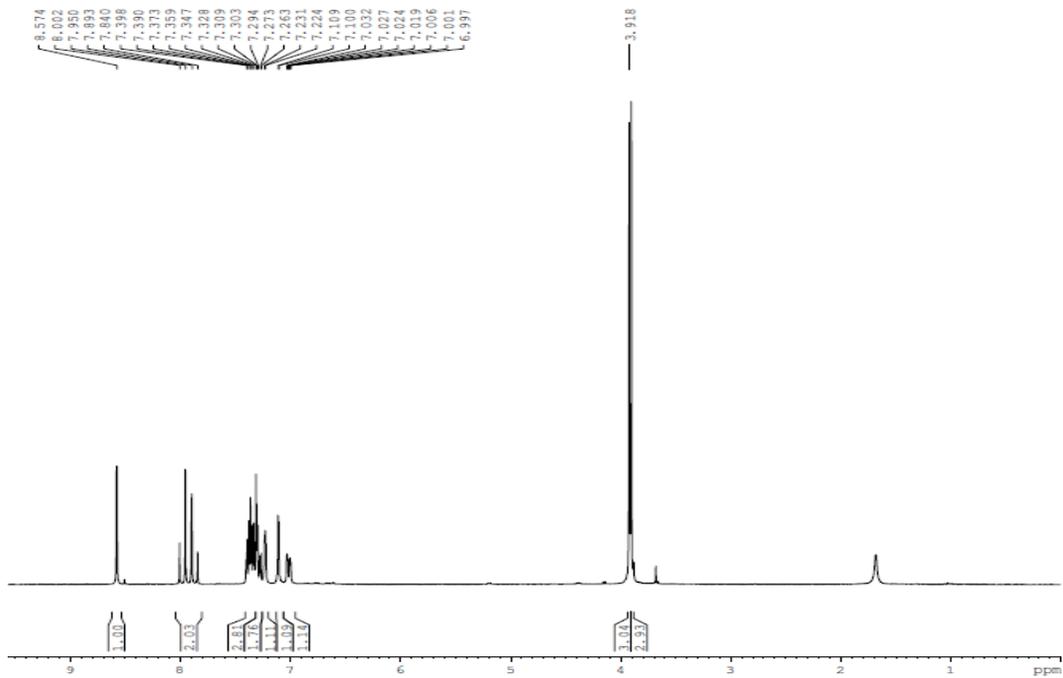


Figura 71. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{21}

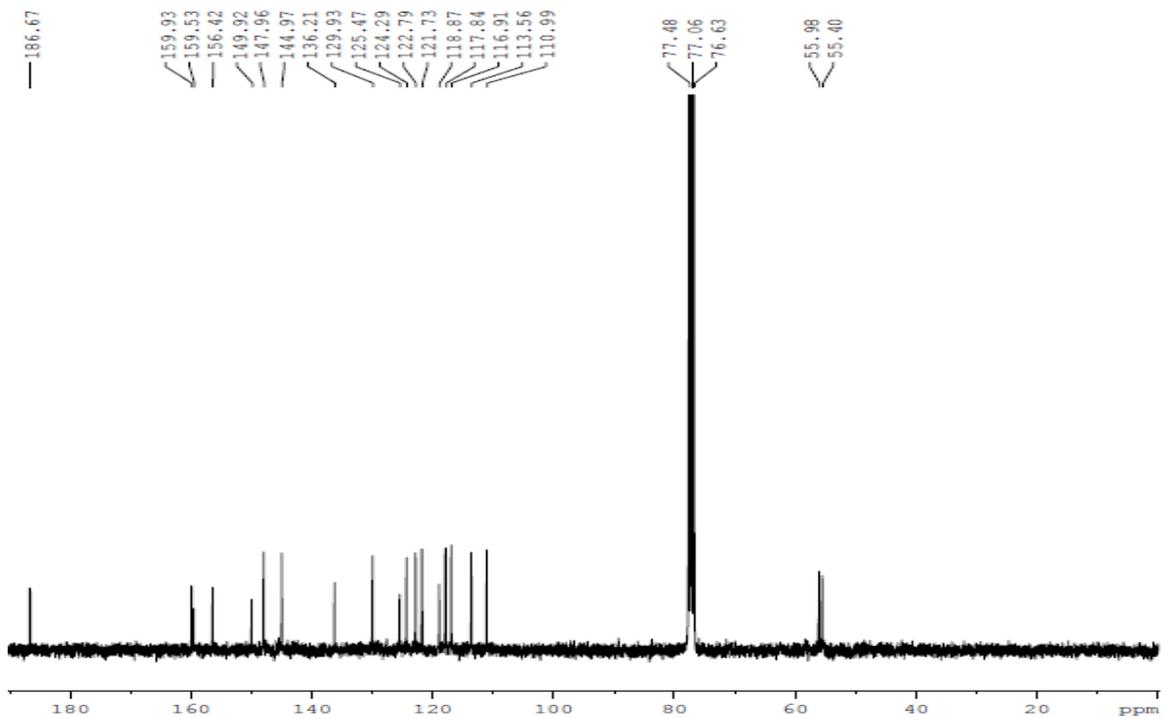


Figura 72. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{21}

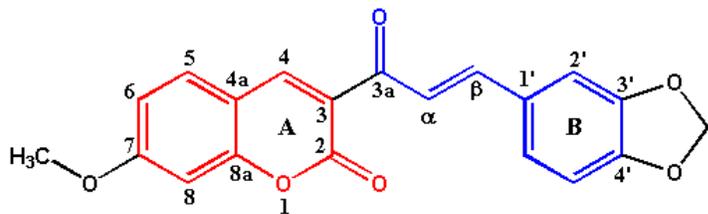


Figura 73. Estructura del compuesto (*E*)-3-[3-(benzo [d] [1,3] dioxol-5-il)acriloil]-7-metoxi-2H-cromen-2-ona (**H₂₂**)

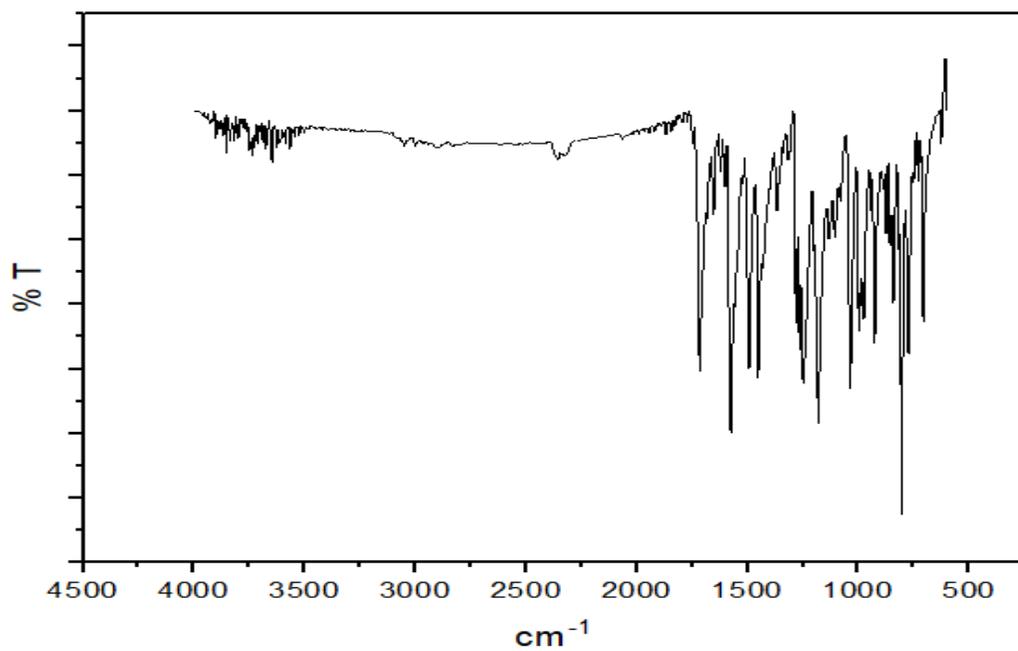


Figura 74. Espectro IR del compuesto **H₂₂**

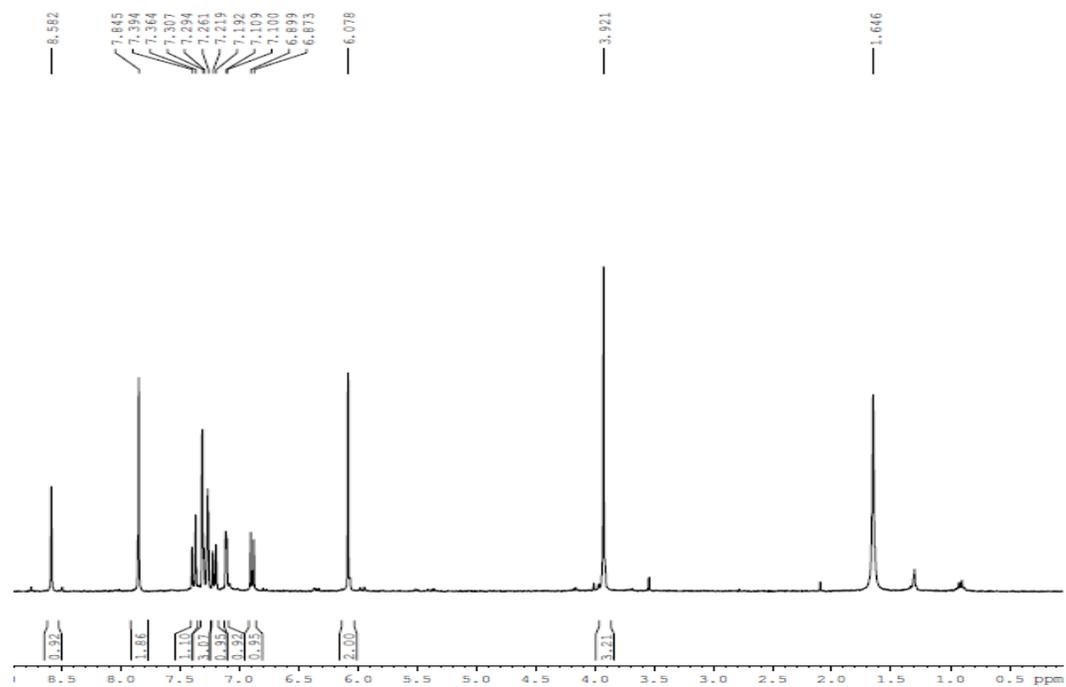


Figura 75. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{22}

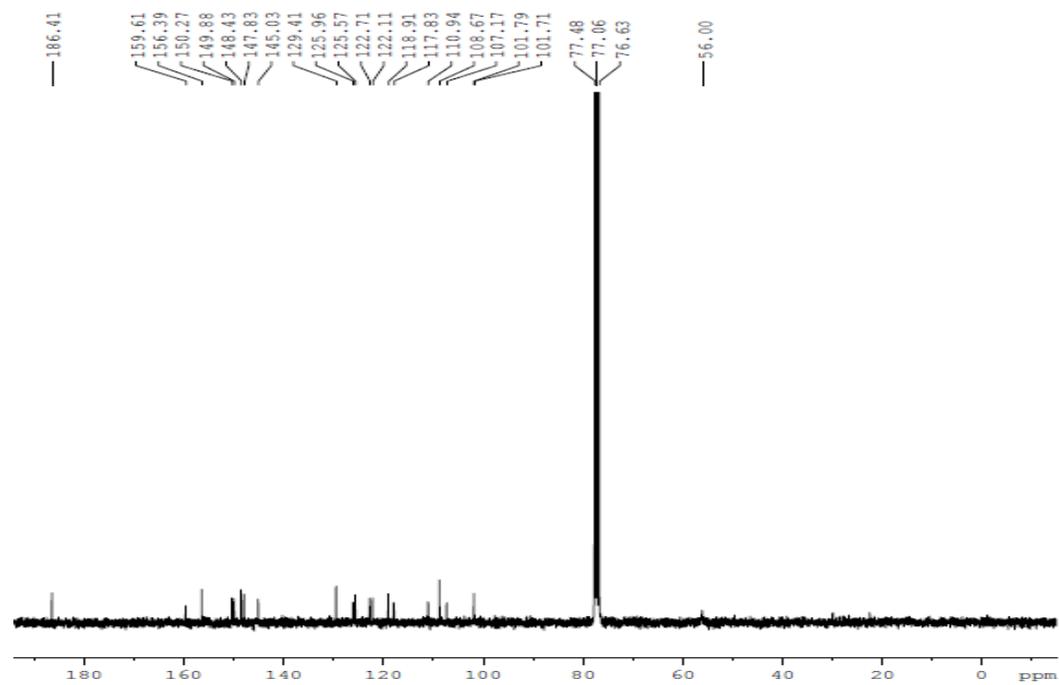


Figura 76. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{22}

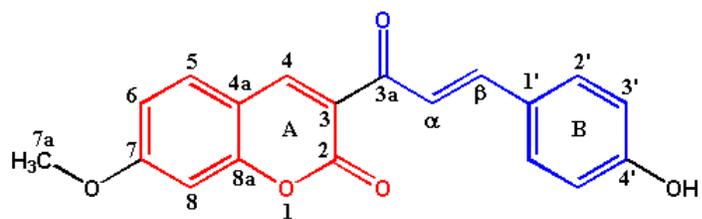


Figura 77. Estructura del compuesto (*E*)-3-[3-(4-hidroxifenil)acrilóil]-7-metoxi--2H-cromen-2-ona (**H₂₃**)

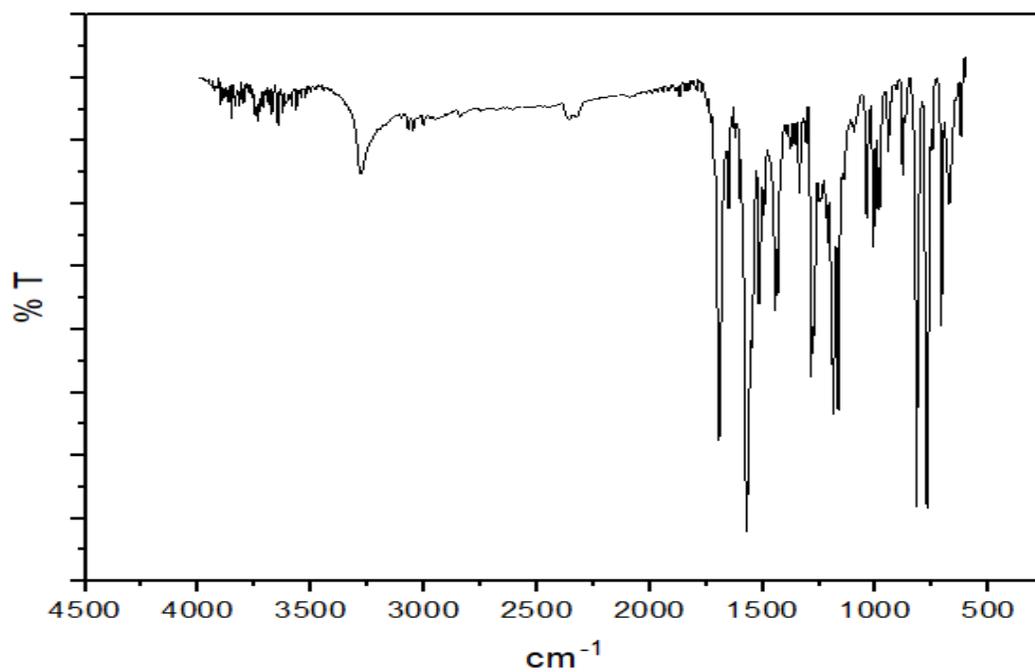


Figura 78. Espectro IR del compuesto **H₂₃**

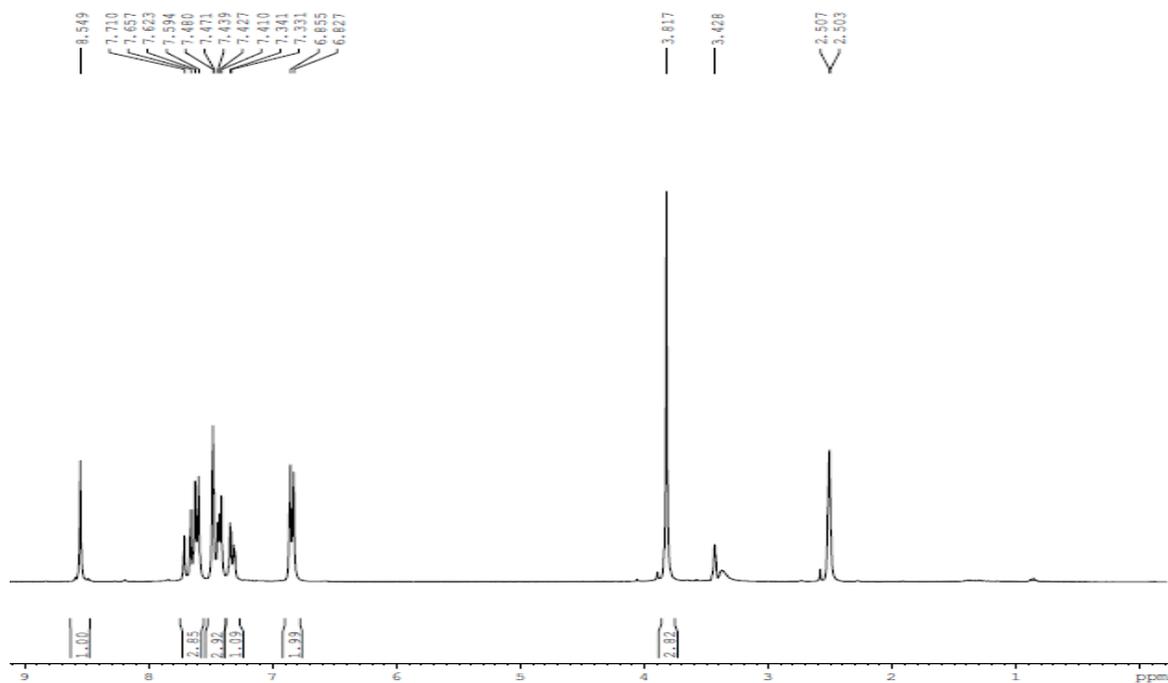


Figura 79. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{23}

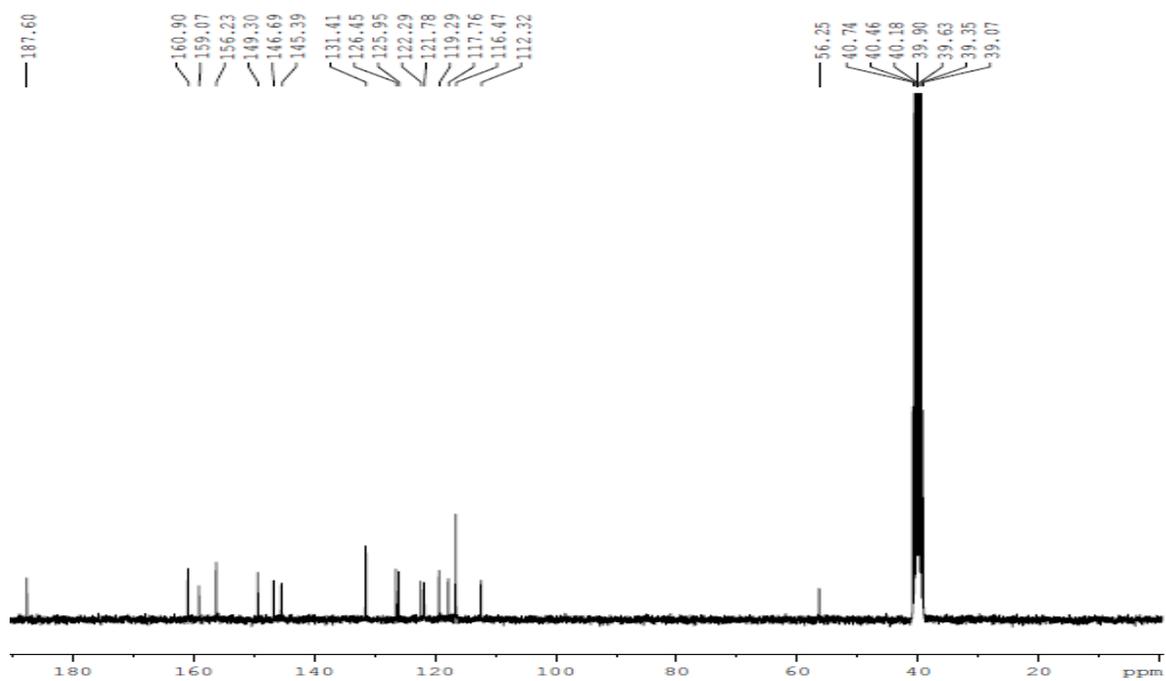


Figura 80. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{23}

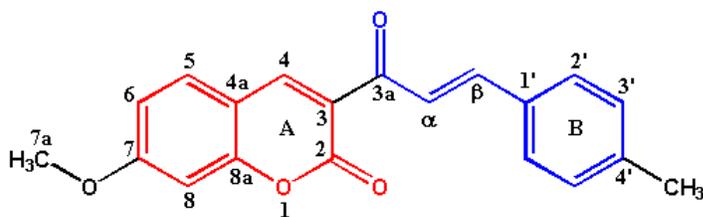


Figura 81. Estructura del compuesto (*E*)-7-metoxi-3-[3-(*m*-tolil)acriloil]-2H-cromen-2-ona (**H₂₄**)

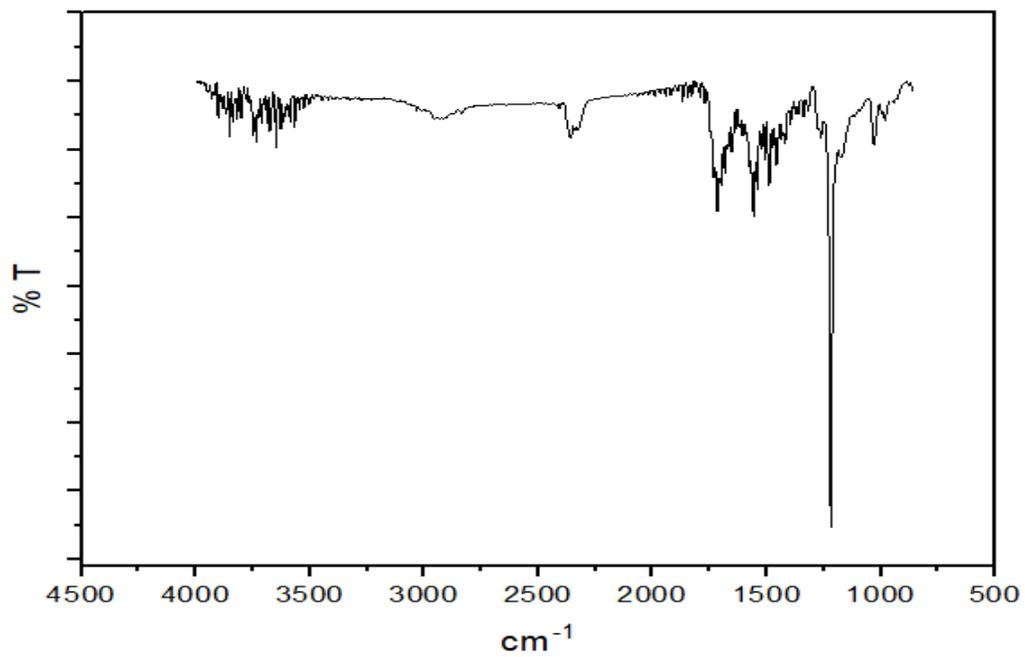


Figura 82. Espectro IR del compuesto **H₂₄**

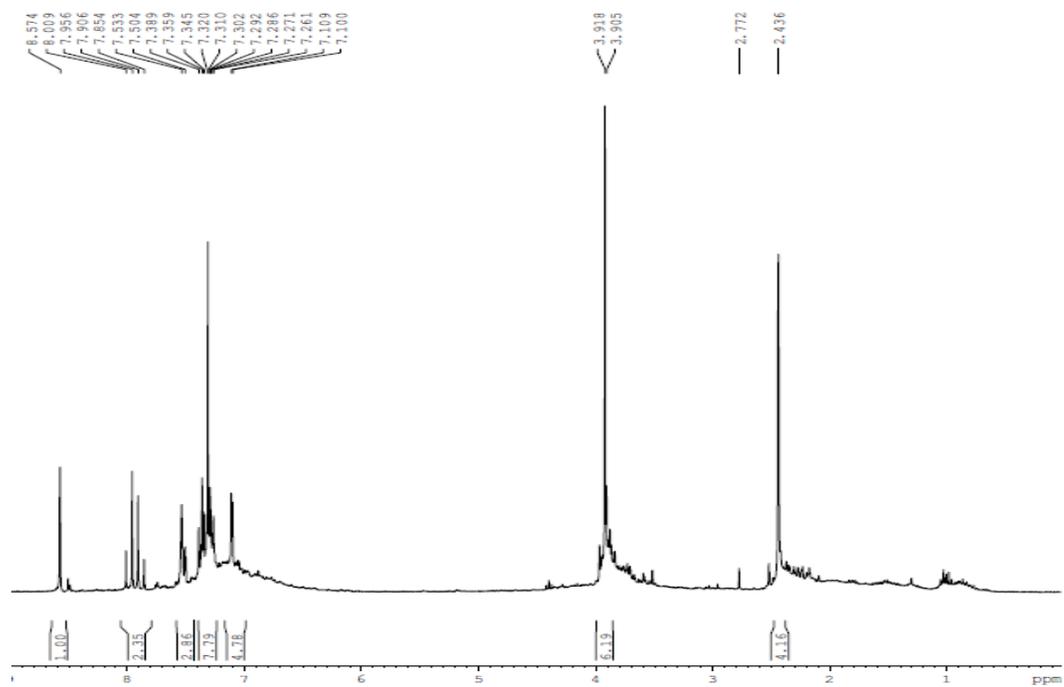


Figura 83. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{24}

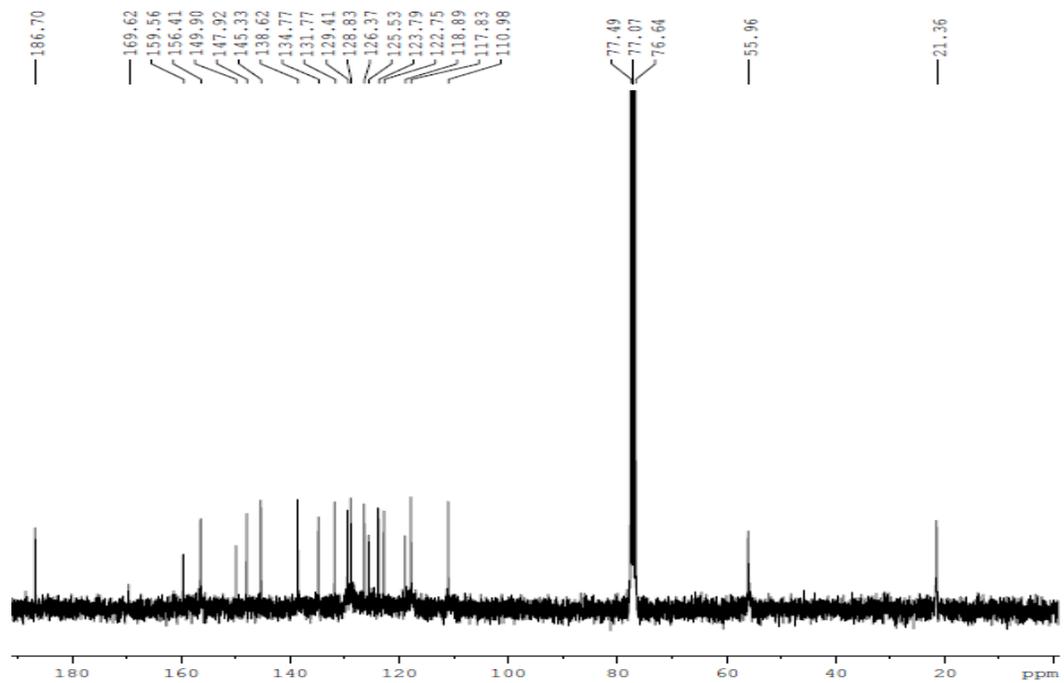


Figura 84. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{24}

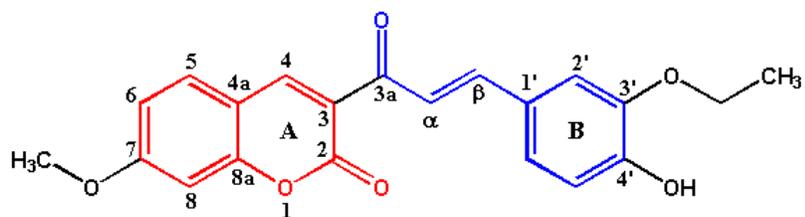


Figura 85. Estructura del compuesto (*E*)-3-[3-(3-etoxi-4-hidroxifenil)acrililoil]-7-metoxi-2H-cromen-2-ona (**H₂₅**)

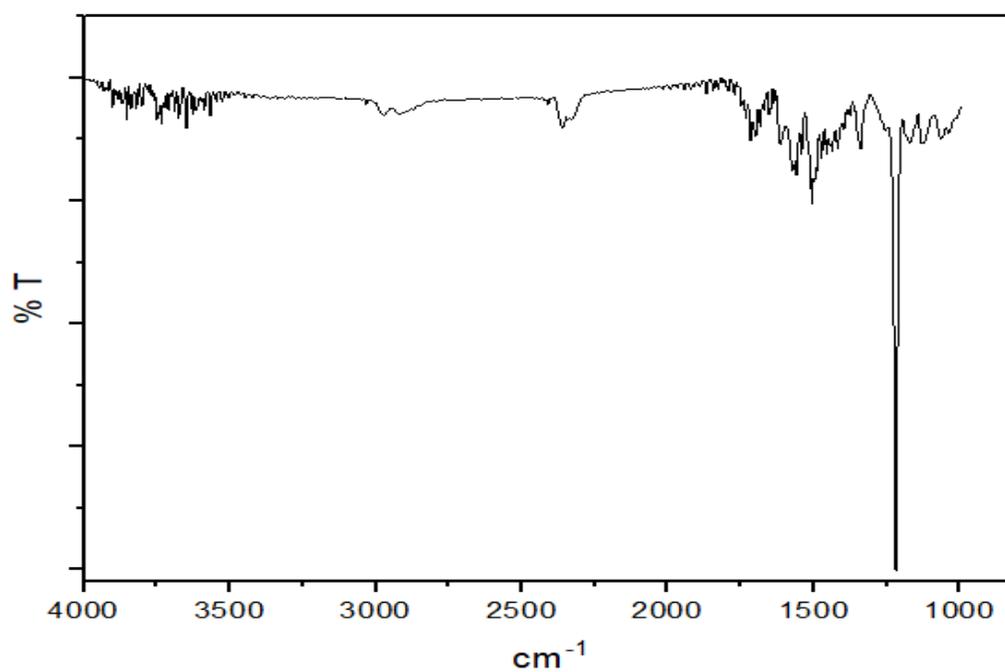


Figura 86. Espectro IR del compuesto **H₂₅**

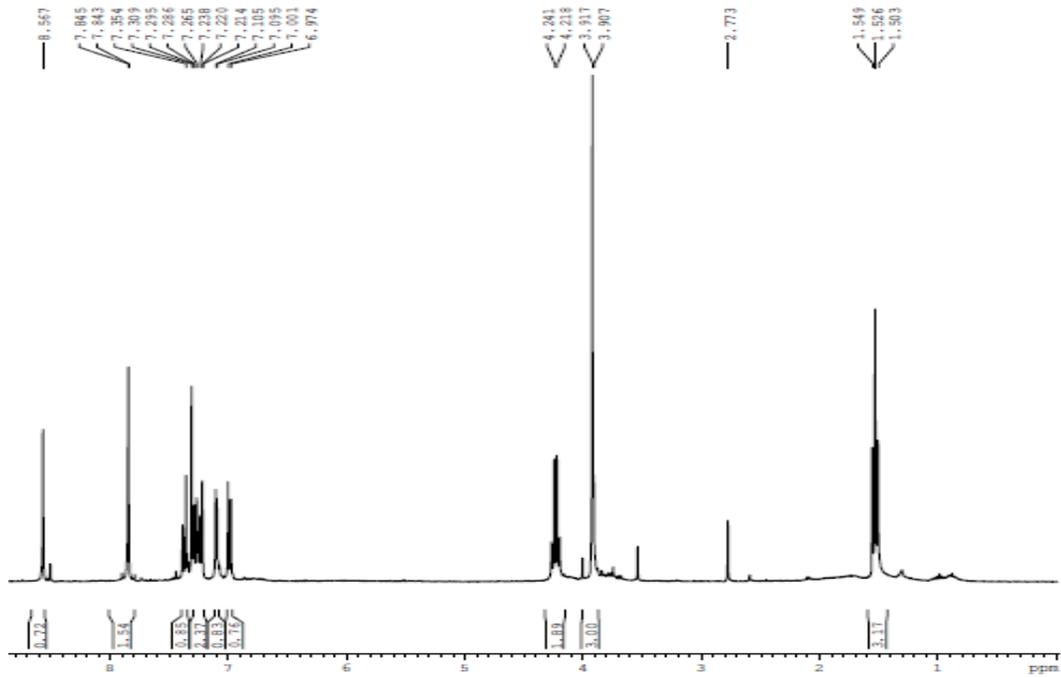


Figura 87. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{25}

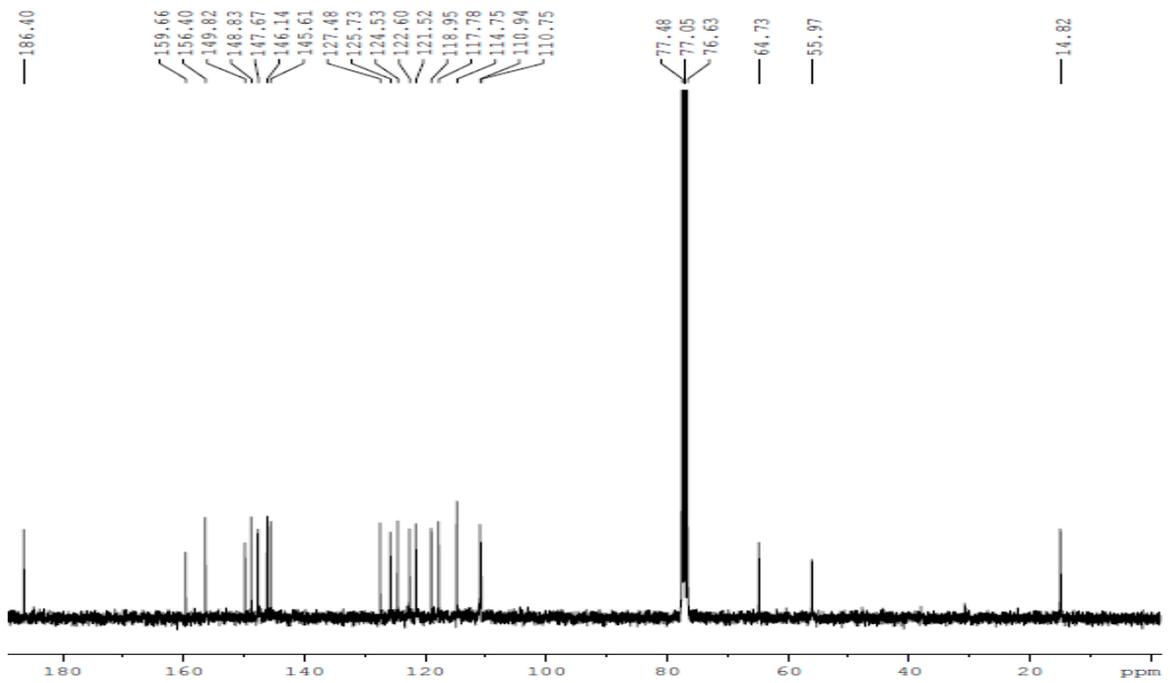


Figura 88. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{25}

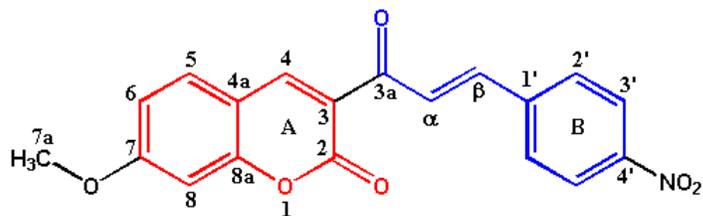


Figura 89. Estructura del compuesto (*E*)-7-metoxi-3-[4-nitrofenil]acrilóil]-2H-cromen-2-ona (**H₂₆**)

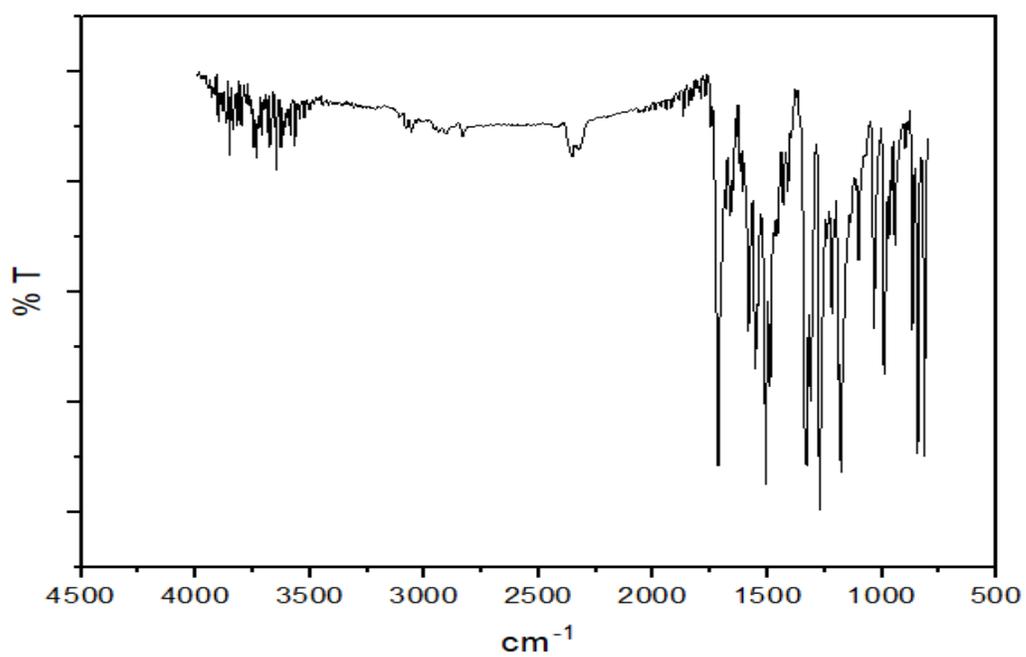


Figura 90. Espectro IR del compuesto **H₂₆**

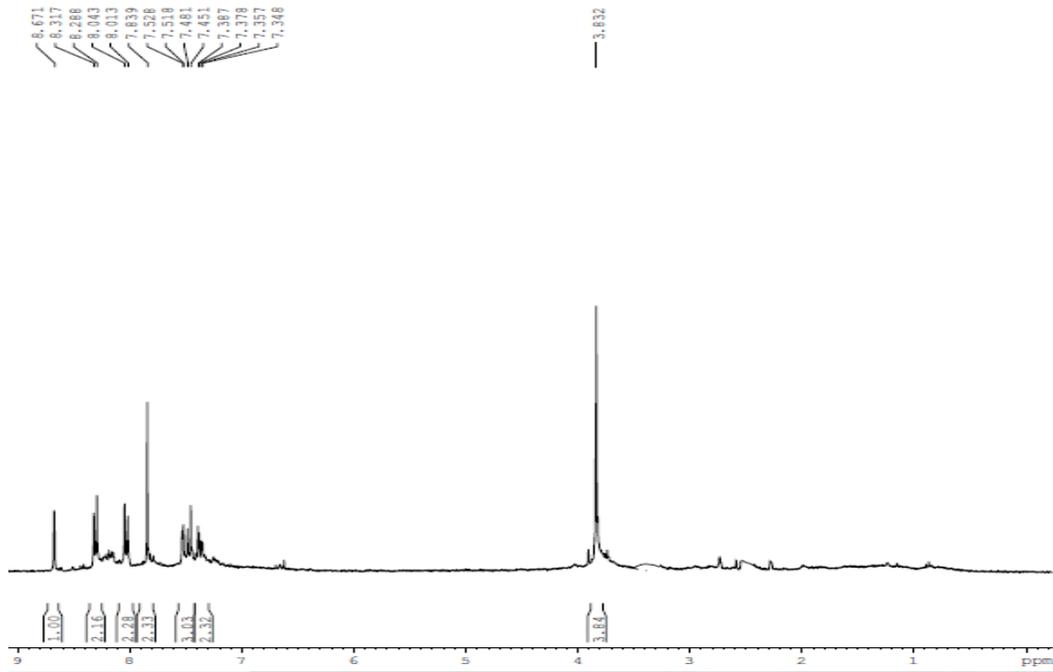


Figura 91. Espectro de ^1H RMN del compuesto H_{26}

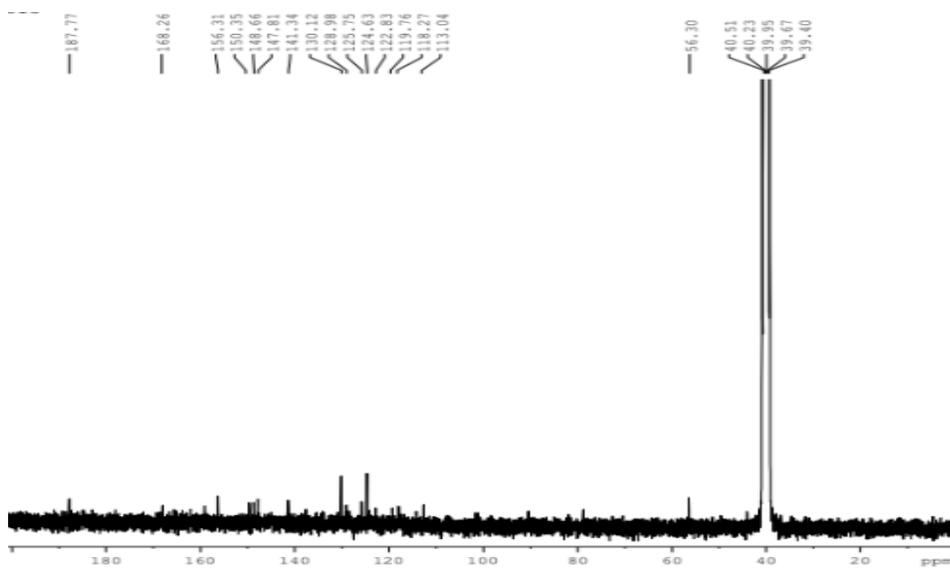


Figura 92. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto H_{26}

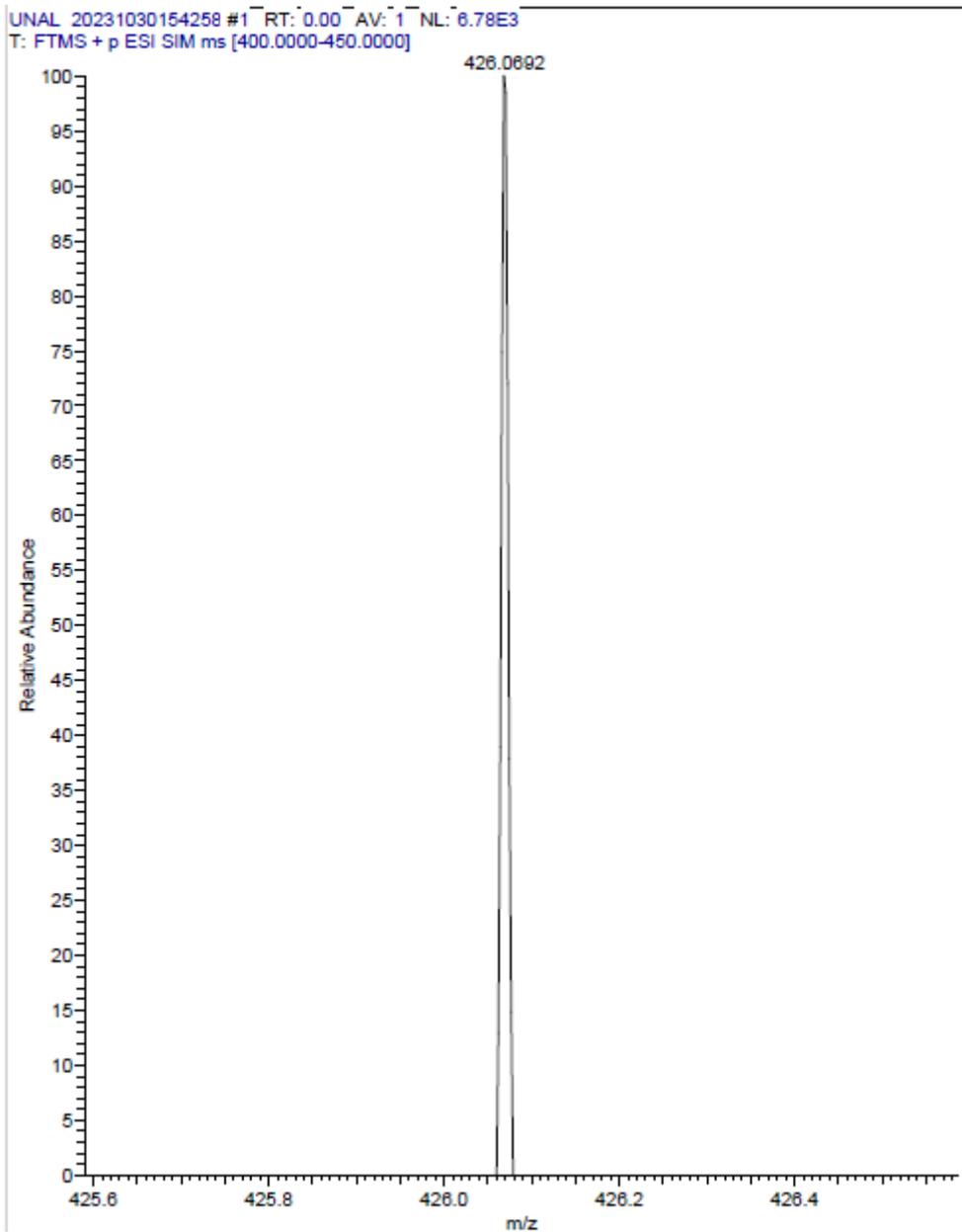


Figura 93. Espectro de LC-MS del compuesto **H₁₅**

UNAL 20231030154620 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 6.31E8
T: FTMS + p ESI SIM ms [380.0000-410.0000]

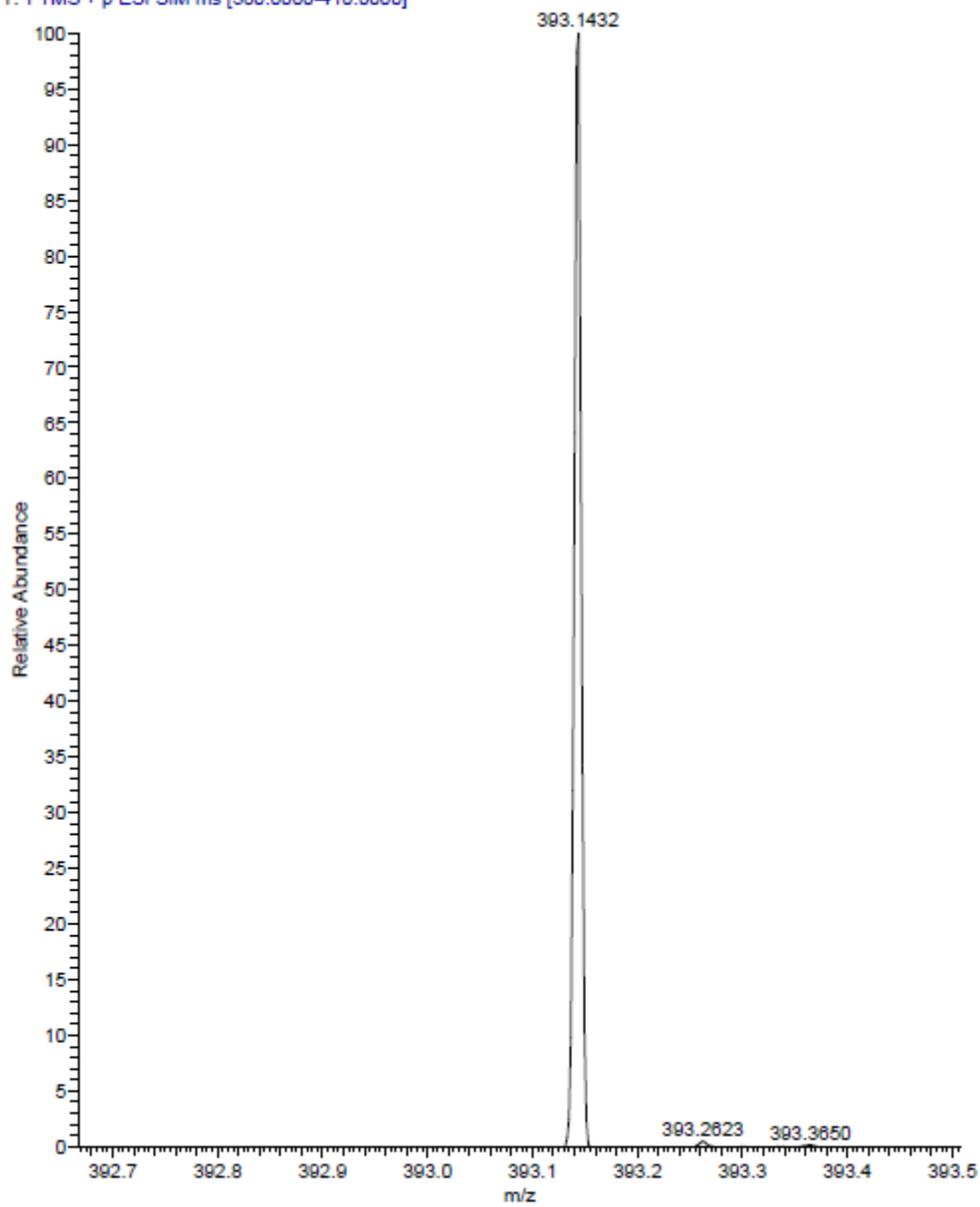


Figura 94. Espectro de LC-MS del compuesto **H₁₇**

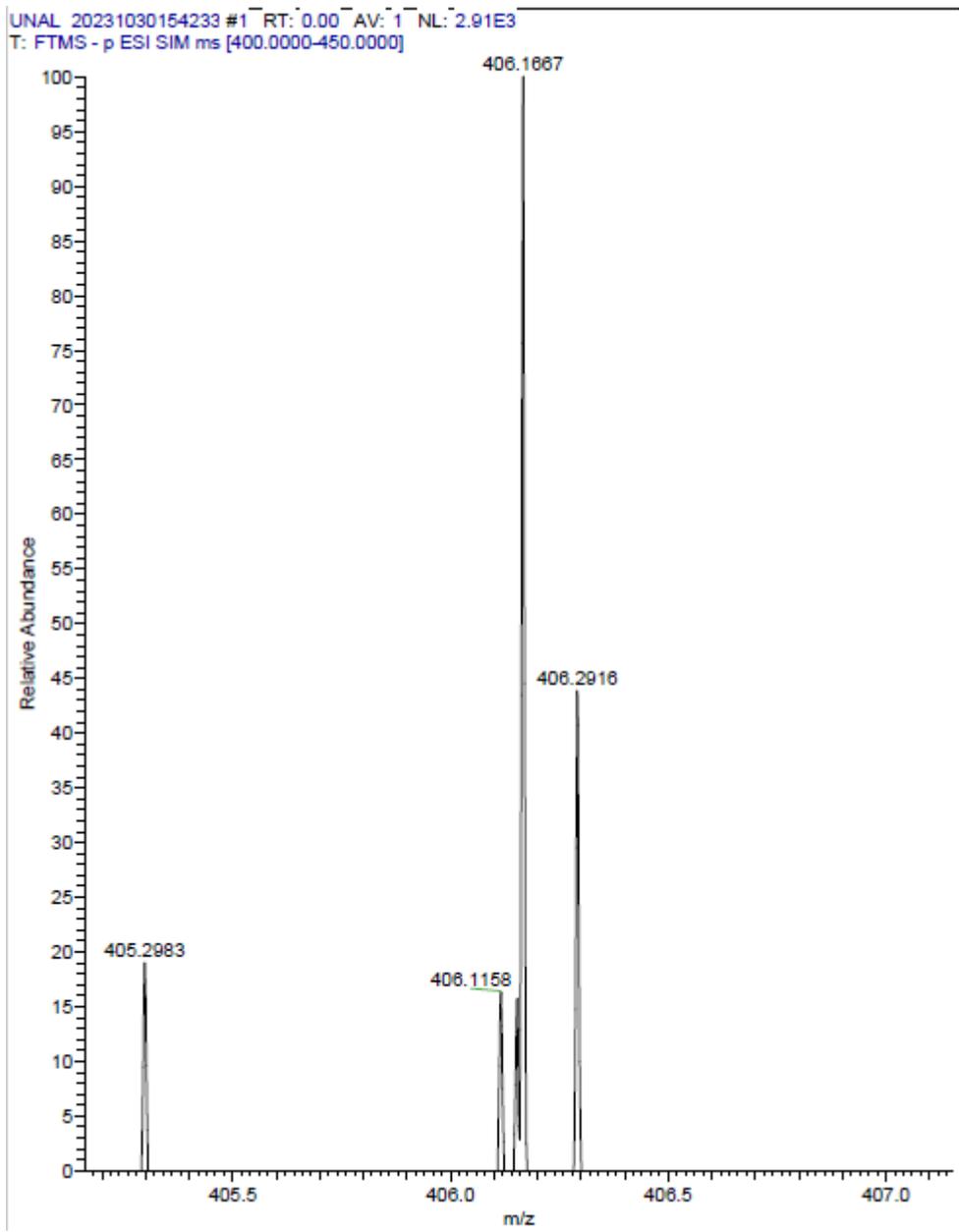


Figura 95. Espectro de LC-MS del compuesto H₁₁₀

UNAL 20231030155049 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 4.94E5
T: FTMS + p ESI SIM ms [330.0000-370.0000]

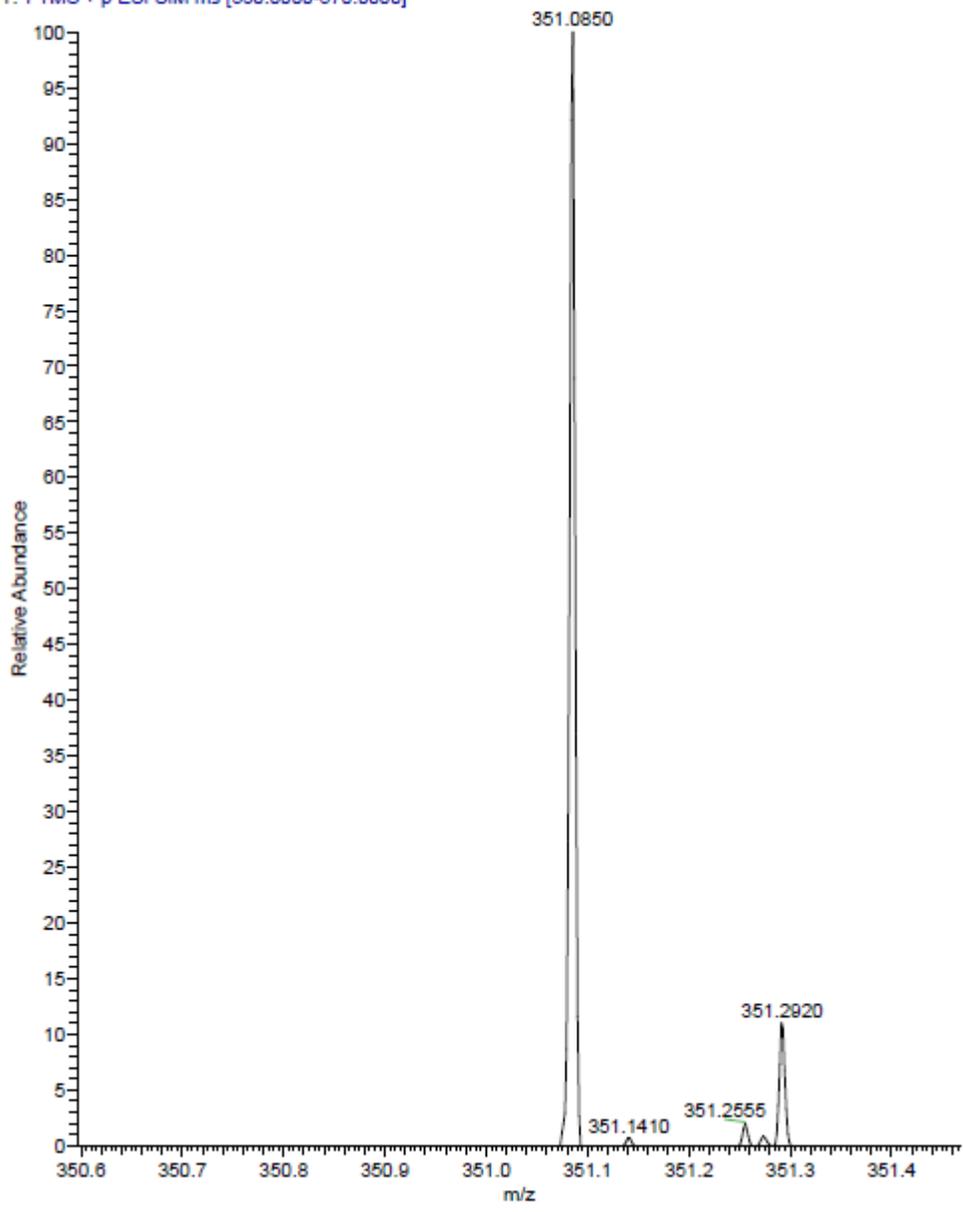


Figura 96. Espectro de LC-MS del compuesto H₂₂

UNAL 20231030153258 #12 RT: 0.05 AV: 1 NL: 2.09E2
T: FTMS + p ESI SIM ms [300.0000-350.0000]

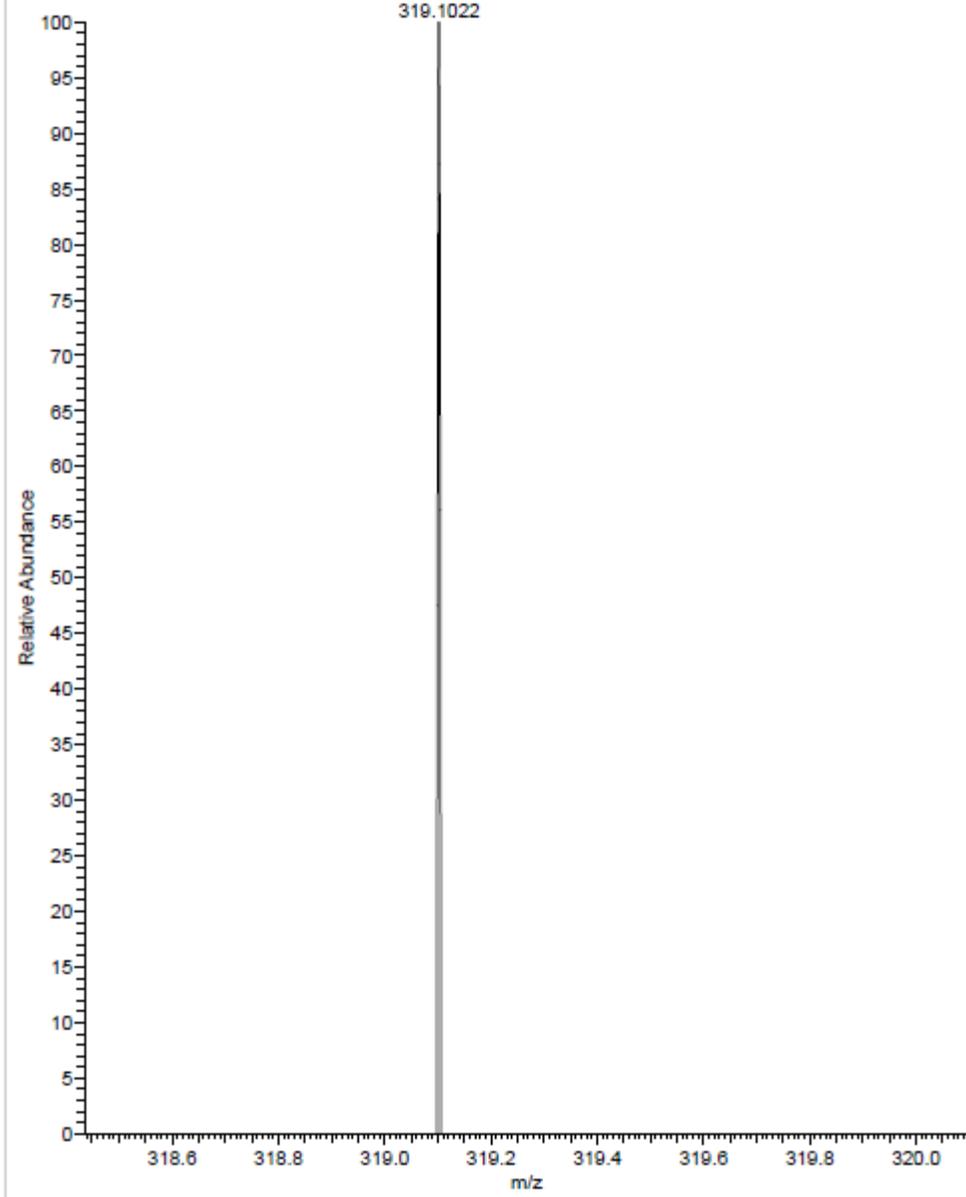


Figura 97. Espectro de LC-MS del compuesto **H₂₂**

UNAL 20231030152918 #72 RT: 0.32 AV: 1 NL: 3.15E2
T: FTMS - p ESI SIM ms [380.0000-380.0000]

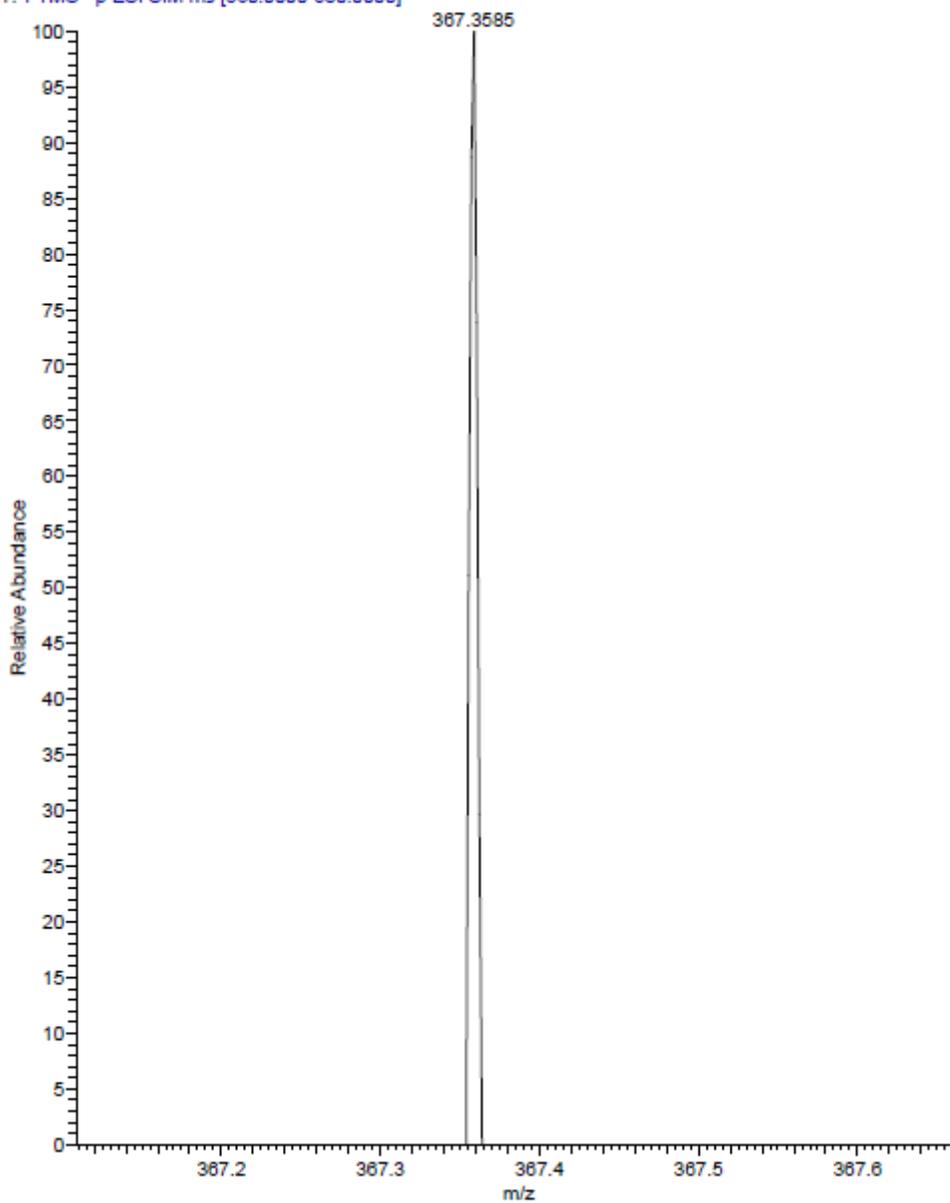


Figura 98. Espectro de LC-MS del compuesto H₂₅