

Química de coordinación como un arma para el desarrollo de potenciales drogas antimaláricas. Estudio de los posibles mecanismos de acción

CAMACHO, J.²; FERRER, R.^{1*}; MALDONADO, A.³; NAVARRO M.³

Resumen

El principal problema en la lucha contra la malaria lo representa la resistencia hacia múltiples fármacos desarrollada por los parásitos del género *Plasmodium*, agentes causales de la malaria; requiriéndose nuevas estrategias para solventar esta situación. Una estrategia que ha cobrado auge es la incorporación de una porción organometálica a drogas antimaláricas estándar, con la finalidad de revertir la resistencia y prolongar su vida útil como antimalárico; tal es el caso de la ferroquina y sus distintos derivados. Encontramos que los complejos de oro, rutenio y rodio derivados de cloroquina, así como la síntesis de complejos multidentados de metales (III), han sido reportados como potenciales antimaláricos. A continuación se presenta una breve revisión del desarrollo de estos compuestos, haciendo énfasis en los diversos mecanismos de acción que pudieran estar involucrados en dicha actividad.

Palabras clave: malaria, hemozoína, cloroquina, ferroquina, resistencia.

Abstract

Plasmodium falciparum antimalarial multidrug resistance is the greatest difficulty in the fight against Malaria, therefore it is necessary to look for a strategy to overcome this situation. This new strategy is the development of new synthetic compounds in which an organometallic fragment is bonded to a known antimalarial drug; this new drug may increase their effectiveness as had been shown by ferroquine and other chloroquine metallic complexes. The synthesis of novel class of multidentate metal (III) coordination complexes had been reported. The aim of this review is to provide an overview about several developments of these compounds, emphasizing the possible mechanism of action involved.

Keys words: Malaria, haemozoin, chloroquine, ferroquine, drug resistance

Introducción

La malaria o paludismo representa una de las enfermedades infecciosas más importantes a nivel mundial, siendo África el sitio donde ocurre el 90% de los contagios y muertes. La mayoría de los casos fatales son producidos por el *Plasmodium falciparum*.

Por mucho tiempo el proceso de degradación de la hemoglobina del hospedante por parte del parásito ha representado el punto clave en la búsqueda de un blanco específico para el desarrollo de nuevos fármacos, dada la importancia que posee este mecanismo para la supervivencia del parásito. Apoyados

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

² Laboratorio de Síntesis Orgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apartado 40.109. Caracas 1040-A. Venezuela.

³ Laboratorio de Química de los Metales de Transición. Centro de Química. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas-IVIC. Altos de Pipe. Venezuela. e-mail: rferrer@luz.edu.ve

principalmente en dicho mecanismo se han diseñado y sintetizado la mayoría de los fármacos antimaláricos.

La propagación de la resistencia a la cloroquina y a otros fármacos como la quinina, mefloquina, halofantrina y pirimetamina-sulfadoxina, es la principal dificultad que existe en la lucha contra la malaria. Esto hace imperativo el desarrollo de nuevas estrategias para su control quimioterapéutico. La química de coordinación representa una de las estrategias que ha surgido actualmente, como un arma para revertir la resistencia a drogas desarrollada por el *Plasmodium falciparum*, la más letal de las especies que infectan al hombre.

En este artículo se presenta una breve revisión del desarrollo de los complejos de coordinación como potenciales compuestos a ser empleados en la terapia antimalárica, haciendo énfasis en los diversos mecanismos de acción que pudieran estar involucrados en dicha actividad.

Formación de Hemozoína como principal blanco para la acción de drogas antimaláricas

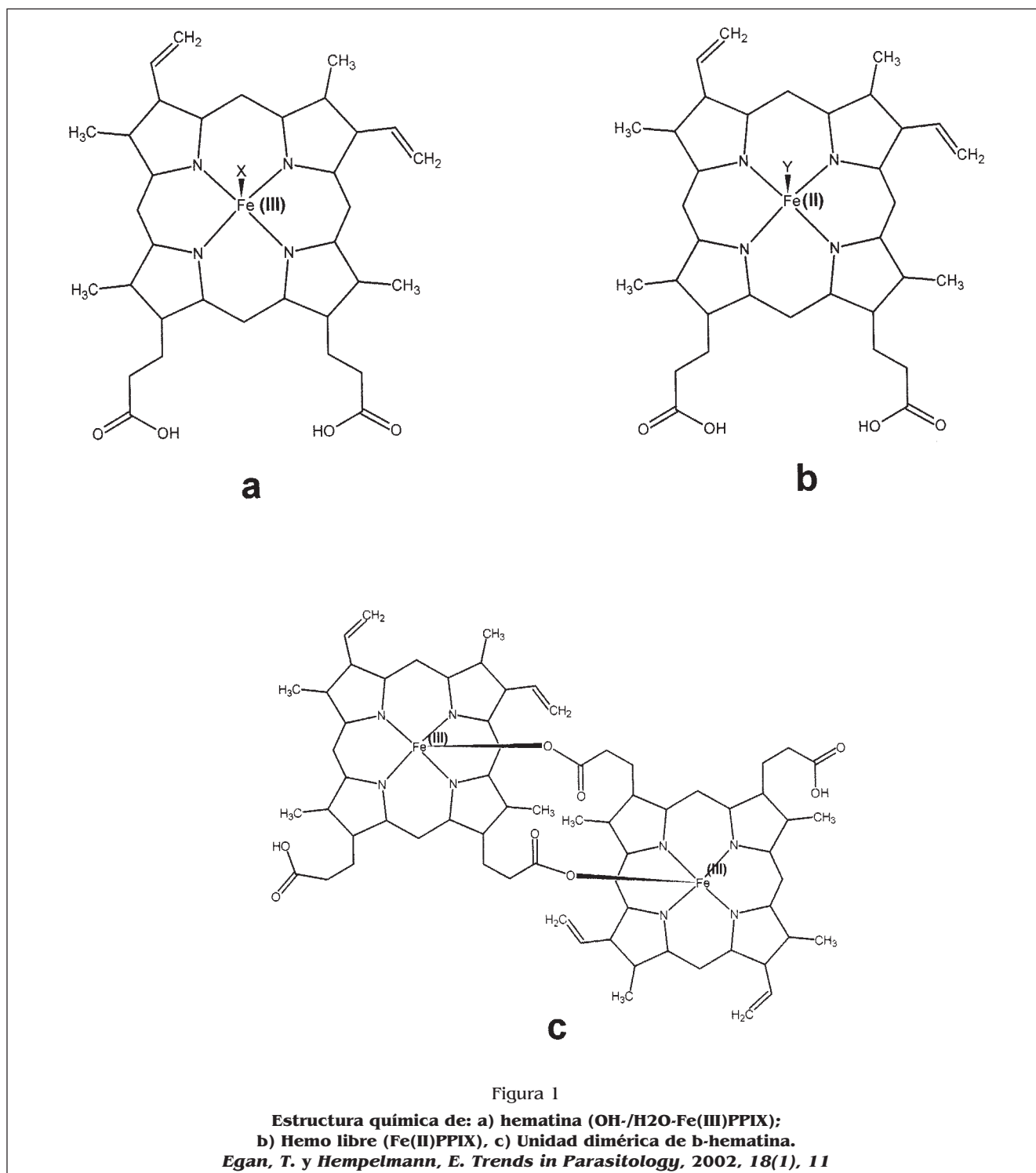
Por muchos años se ha aceptado que la digestión de la hemoglobina del eritrocito hospedador se desarrolla en la vacuola digestiva, donde existen enzimas proteolíticas (proteasas aspártico, cisteínicas y metaloproteasas) que son activas bajo condiciones ácidas. De esta forma el parásito adquiere los aminoácidos requeridos para la síntesis de sus propias proteínas mientras que desarrolla un proceso de desintoxicación del hemo libre, para evitar la toxicidad ocasionada por la acumulación del mismo, debido a la generación de especies superóxidos y peróxidos que desencadenarían modificación de aminoácidos, así como daños a las membranas celulares y al ADN (Tilley y col., 1999). Este proceso de desintoxicación consiste en oxidar el hemo libre (Fe(II)PPIX) a hematina (H₂O/OHFe(III)PPIX) para generar posteriormente el pigmento malárico inocuo denominado Hemozoína (Egan, 2004). Este pigmento está constituido por β-hematina (Fig. 1) y otros componentes que no han sido caracterizados completamente pero que pueden incluir hemoglobina degradada u otras proteínas, así como FePPIX no dimerizada y lípidos (Sullivan, 2002; Fitch, 2004).

La β-hematina ha sido sintetizada y caracterizada bajo diversas condiciones experimentales (Slater y col., 1991; Egan y col., 1994; Dorn y col., 1995; Pagola y col., 2000; Blauer y Akkawi, 2002). Es capaz de almacenarse en forma cristalina en las vacuolas digestivas y residuales, siendo insoluble a pH fisiológico. El modelo más reciente involucra una unidad dimé-

rica, donde un par de unidades de hematina se coordinan entre sí (enlace coordinado del oxígeno carboxilato de una con el hierro central de otra); al mismo tiempo esta unidad se enlaza a otro dímero por enlaces de hidrógeno de las cadenas laterales no involucrados en los complejos de coordinación con hierro, formando los cristales característicos (Pagola y col., 2000; Hempelmann y Egan, 2002) (Fig. 2).

Desde que se evidenció que la inhibición de hemoglobinas es letal para el parásito, los investigadores se han centrado en el estudio de los procesos que involucran la formación de hemozoína/β-hematina con la finalidad de desarrollar drogas antimaláricas que logren intervenir en alguna etapa del mecanismo de formación del pigmento malárico, evitando que el parásito desarrolle su proceso de desintoxicación, y de esta forma eliminarlo.

A pesar de las evidencias sobre la importancia de este proceso para el parásito, aún no existe un consenso sobre los mecanismos involucrados en la formación de hemozoína. Entre algunas de las hipótesis planteadas se encuentra la existencia de una posible enzima encargada de catalizar el proceso de «polimerización del hemo», a la cual se le ha dado el nombre de Hemopolimerasa; sin embargo, aún no se ha logrado aislar ninguna proteína a la que se le pueda adjudicar tal función de forma inequívoca, incluso ha sido cuestionada en algunas investigaciones (Dorn y col., 1995). Una segunda hipótesis involucra formación autocatalítica, es decir, propiciada por la hemozoína preformada. Recientemente, estudios basados en las diferencias de solubilidades de hematina y β-hematina han planteado la posibilidad de que la nucleación del cristal de β-hematina sea mediada por algún facilitador del proceso, surgiendo dos nuevas teorías. La primera representa la intervención de lípidos en este proceso. Se ha propuesto que los ácidos grasos insaturados sirven para concentrar la hematina y mantenerla en un estado favorable para la dimerización, probablemente a través de un mecanismo oxidativo, basados en el hecho de que ácidos grasos saturados no muestran la misma acción (Bendrat y col., 1995; Dorn y col., 1998). Por otra parte, estudios recientes adjudican esta función a una proteína específica del parásito denominada Proteína rica en histidina II (HRPII), la cual al parecer es capaz de transportar de 20 a 50 unidades de hematina propiciando la nucleación (Sharma, 1988; Howard y col., 1989; Sullivan y col., 1996; Chahuan y col., 1999; Marletta y col., 1999; Egan, 2002). Esta evidencia genera una nueva controversia debido a que otros estudios demuestran que donde existe la mayor concentración de esta proteína es en el citosol del parásito y no en la vacuola diges-



tiva, proponiéndose un nuevo mecanismo de biogénesis de la hemozoína que involucra una vesícula de transporte y rompiendo con la teoría de que el proceso de degradación de la hemoglobina y posterior formación de hemozoína se desarrolla en la vacuola digestiva del parásito (Hempelmann y col., 2003).

De esta forma, los principales ensayos efectuados para evaluar la actividad antimalárica de nuevos compuestos se basan, en su mayoría, en la medición del

grado de inhibición de la formación de hemozoína que puedan provocar los mismos, apoyados en métodos espectroscópicos, principalmente espectroscopia UV-visible (Raynes y col., 1996; Dorn y col., 1998; Pandey y col., 2001; Sullivan y Chong, 2003) e IR (Egan y col., 1994 y 2001; Walter y col., 2004). Los protocolos de dichos ensayos varían de una investigación a otra, básicamente en la incorporación de extractos del parásito que aparentemente facilitaría la formación de

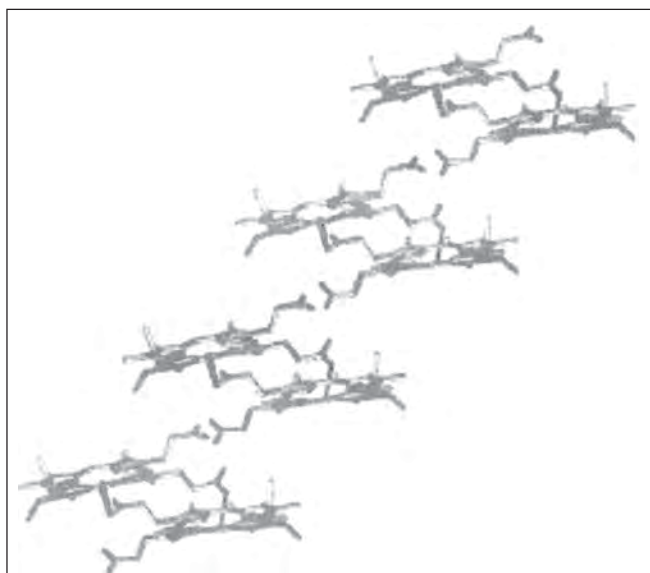


Figura 2

Modelo actual de cristales de hemozoina representado como un dímero.

Sullivan, DJ. In *Biopolimers*, Vol 9, *Miscellaneous. Biopolimers and Biodegradation of Synthetic Polymers. Biopolimers A Steinbuchel Series Editor*. 2002. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. pp. 129-163.

β -hematina, mientras que en otros estudios el prescindir de dichos extractos no parece modificar significativamente los resultados obtenidos. En muchos casos se complementan los resultados de los ensayos de inhibición de formación de hemozoina con otros que determinan la afinidad de la droga a la hematina (Payton y col., 2001) o incluso a la HRP-II (Pandey y col., 2001), con la finalidad de plantear hipótesis sobre el posible mecanismo de acción de la droga. Por otra parte, estos resultados se comparan con los obtenidos en los ensayos de inhibición de crecimiento de población de parásitos.

Todas estas pruebas se requieren para dar una explicación más certera del mecanismo de acción de la droga, ya que no todos los compuestos que forman complejos con la hematina inhiben la formación de hemozoina (Vippagunta y col., 1999), así como se ha reportado que la concentración requerida de un compuesto para inhibir la formación de hemozoina es mucho mayor que la necesaria para inhibir el crecimiento de cepas del parásito (Raynes y col., 1996).

Complejos metálicos como potenciales antimaláricos

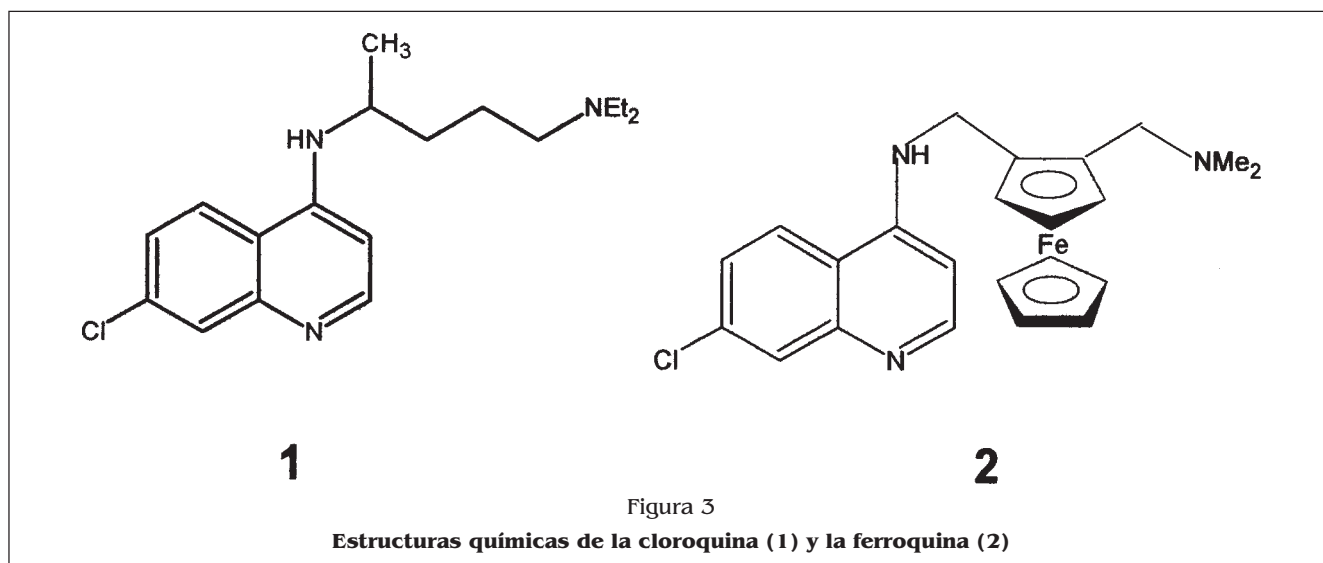
Cloroquina versus ferroquina: Ligandos empleados para la síntesis de complejos metálicos

La cloroquina (CQ) **1** es el fármaco antimalárico más empleado hasta el presente, debido a su eficiencia,

tolerancia, bajo costo y viabilidad. Sin embargo, la resistencia a la misma por parte del parásito se ha propagado a todas las regiones endémicas. Esta resistencia incluye otras drogas como la quinina, mefloquina y halofantrina, lo cual ha limitado la eficiencia de la quimioterapia antimalárica. Una de las estrategias empleadas en la síntesis de nuevos compuestos con actividad antimalárica consistió en asociar una molécula de ferroceno con la cloroquina, surgiendo la ferroquina (FQ) **2**, un derivado que ha demostrado actividad a concentraciones nanomolares contra parásitos de *Plasmodium falciparum* resistentes a cloroquina (Brocard y col., 1997). La porción ferrocenil posee gran estabilidad en medio ácido o básico, lo que la hace un candidato ideal para la síntesis de metalo-drogas (Charraher y col., 2004). Una de las hipótesis más aceptadas es que la cloroquina ejerce su efecto al acumularse en la vacuola digestiva de los parásitos sensibles, inhibiendo la formación de hemozoina (Homewood y col., 1972). Sin embargo, los parásitos resistentes, a pesar de que muestran incorporación cinética idéntica a los sensibles, liberan la cloroquina más rápidamente como consecuencia de la disminución del grado de acidez dentro de la vacuola, logrando almacenar cloroquina no protonada, la cual no puede mantenerse dentro de la misma el tiempo necesario debido a la permeabilidad de la membrana de la vacuola. Al parecer, la ferroquina puede mantener su forma protonada en el interior de la vacuola, a pesar de que exista un pH ligeramente alcalino y, por consiguiente, es retenida, preservando su acción antimalárica contra cepas resistentes a la cloroquina (Atteke y col., 2003). Una explicación de la diferencia en la acción de estos fármacos se relaciona con los posibles metabolitos obtenidos, sugiriéndose que si la FQ sigue la misma vía metabólica que la CQ (metabolitos) permanecerán más activos que los de la CQ contra el parásito (Biot y col., 1999).

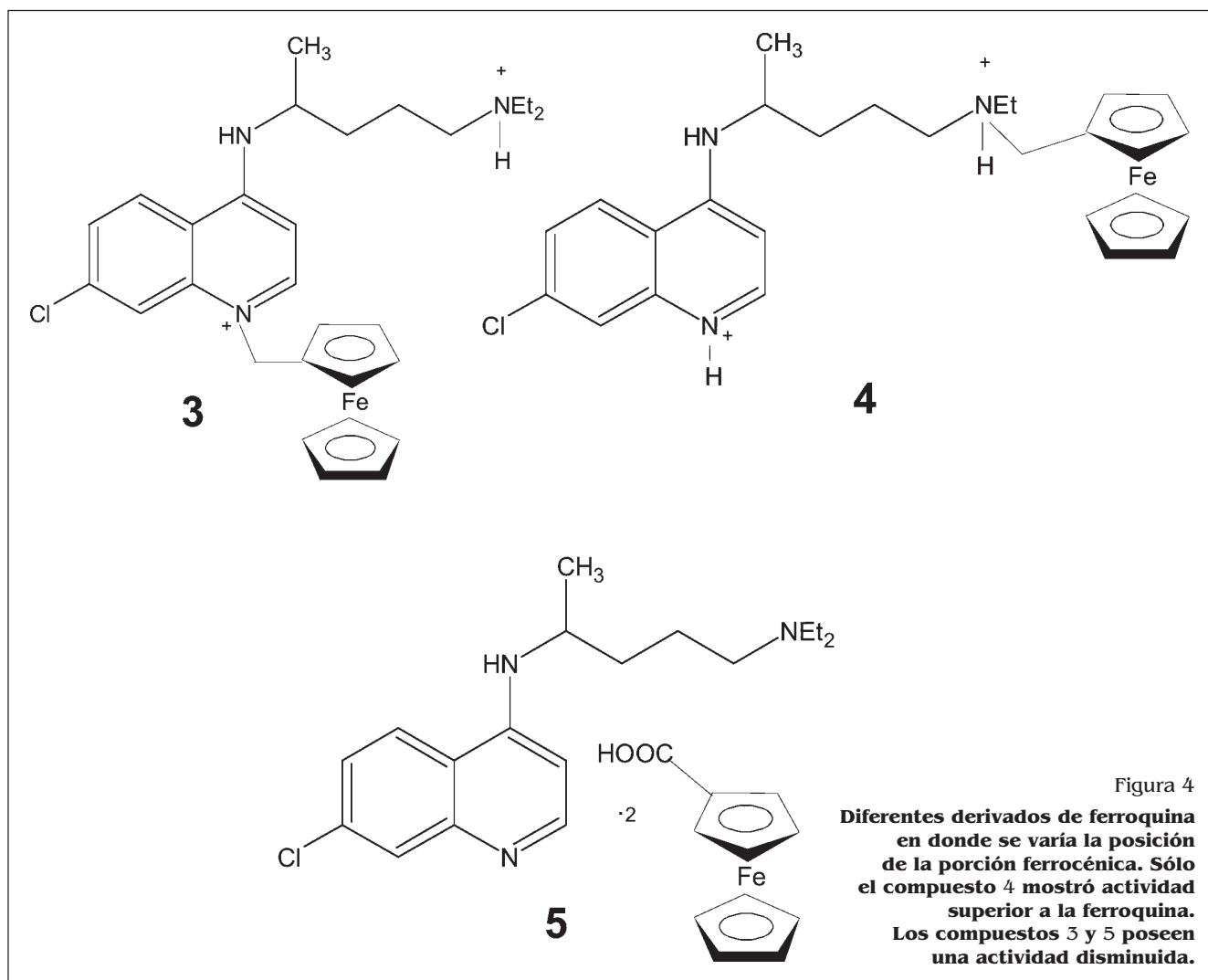
La ferroquina es más eficaz que la cloroquina tanto en cepas sensibles como resistentes, además de existir pocas evidencias de efectos tóxicos y una gran viabilidad de administración oral (Pradines y col., 2001; Biot, 2004). Por otra parte, se ha determinado que ambos enantiómeros son equipotentes, e incluso cada enantiómero es ligeramente menos activo que el racemato, siendo ésta la formulación óptima en la actualidad, por lo que no es necesario resoluciones quirales de alto costo (Delhaes y col., 2002; Biot, 2004).

Existen dudas sobre el papel que juega la porción ferrocenil en la actividad antimalárica de la ferroquina. Una hipótesis postula que la resistencia a la cloroquina puede superarse al incorporar una porción de hierro estable dentro de la molécula de la droga activa, basados en las teorías que plantean una necesidad del



parásito por el hierro libre (Kochan, 1973; Weinberg, 1974; Raventos-Suárez y col., 1982; Peto y Thompson, 1986). Por otra parte, se ha demostrado que la posición del ferroceno en la molécula juega un papel muy im-

portante (Fig. 4), proporcionando actividad antimalárica sólo si se ubica en la cadena lateral, siendo necesario un enlace covalente a la cloroquina (Domarle y col., 1998; Biot y col., 1999).

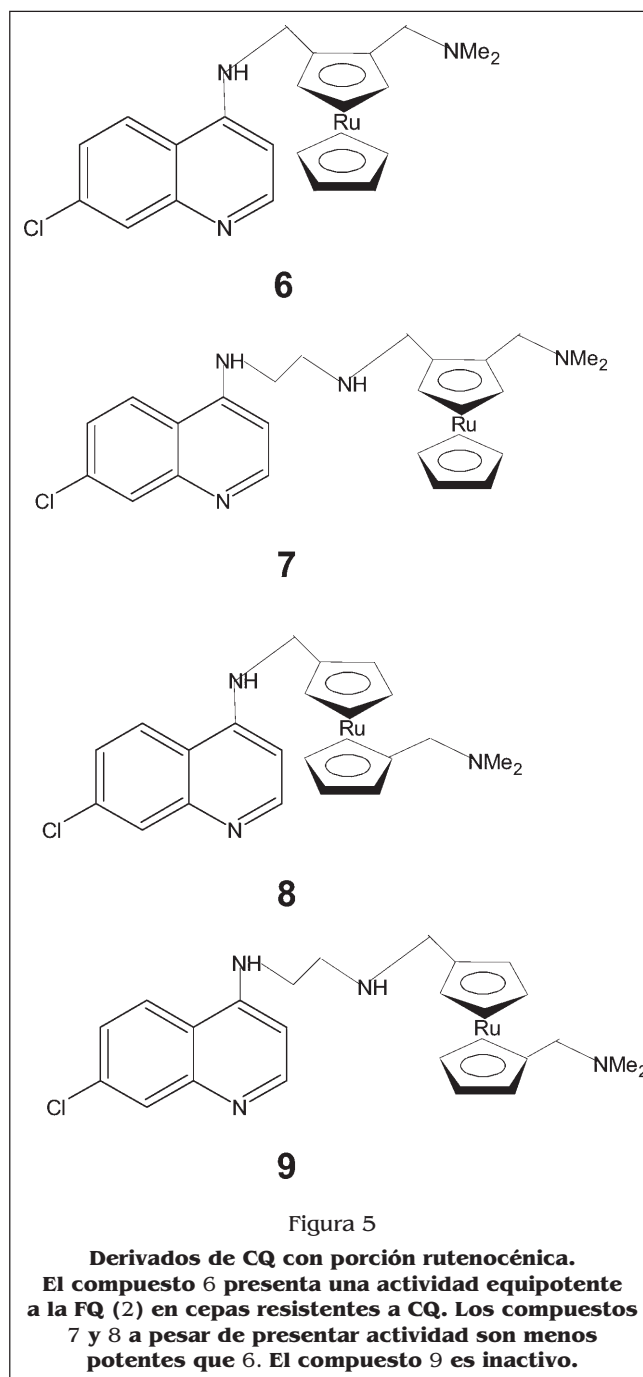


Se propone que el ferroceno puede tener un efecto aditivo o sinérgico cuando se enlaza en forma covalente a una molécula activa biológicamente, limitando su eficacia por sí mismo, proponiéndose un sistema «carnada-gancho» que actuaría sobre el parásito eliminándolo (Moss y col., 2003). Sin embargo, esta hipótesis es desestimada por estudios en los que se incorpora la porción ferrocenil a drogas activas como la mefloquina y derivados de quininas, sin observarse una actividad significativamente superior en la eficacia de las mismas (Biot y col., 2000). Una segunda hipótesis plantea que la porción ferrocenil realza la actividad sólo al aumentar la lipofilicidad, al agrandar el grupo hidrofóbico en la estructura. Esta hipótesis es apoyada en estudios en los que se sintetizaron análogos de rutenoceno (Fig. 5), los cuales no mostraron diferencias significativas en su actividad con ferroquina *in vitro*, atribuyendo la eficacia de estos derivados al gran grupo hidrofóbico, más que al efecto del metal central (Chibale y col., 2002 y 2003) Aunque la acción de la porción ferrocenil no es bien entendida, es un hecho que la ferroquina restaura la actividad de la cloroquina totalmente en cepas resistentes. La actividad biológica de estos compuestos parece ser una función de la actividad inhibitoria de la formación de β -hematina y su habilidad para acceder y acumularse en los sitios de acción.

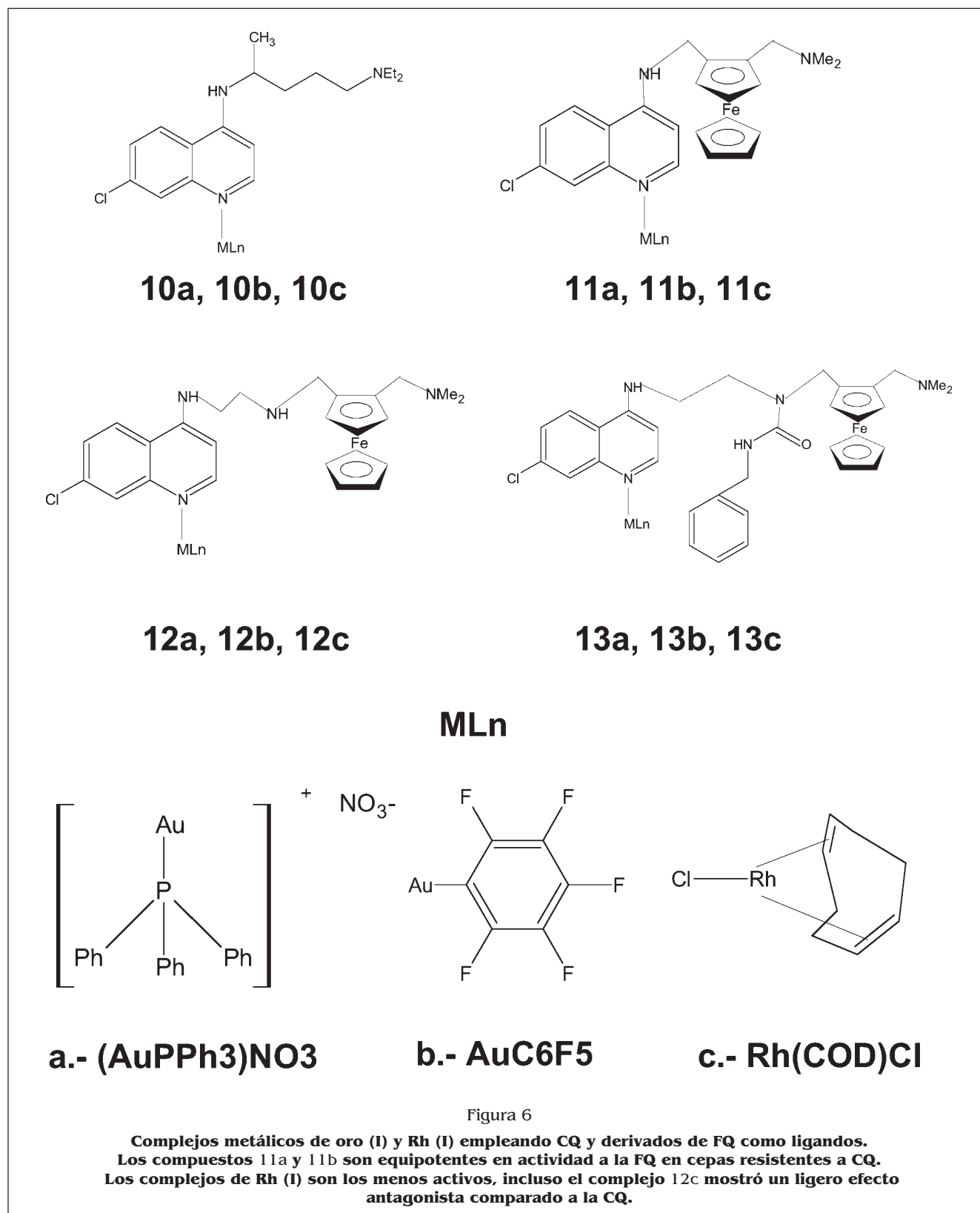
Investigaciones recientes han reportado la síntesis y evaluación biológica de complejos de oro, rodio y rutenio como potenciales drogas antimaláricas, empleando cloroquina, ferroquina y sus derivados como ligandos (Fig. 6) (Sánchez-Delgado y col., 1996 y 1997; Moss y col., 2003). Al parecer la presencia de Au y Rh unido al nitrógeno de la quinolina no muestra un efecto significativo sobre la habilidad de los derivados quinolinicos para inhibir la formación de β -hematina. Sin embargo, compuestos como el **11a** y **11b**, pertenecientes a los denominados complejos heterobimetálicos, han demostrado ser equipotentes a la ferroquina en cepas resistentes a cloroquina, lo cual ha generado discusión sobre el mecanismo de acción de este tipo de compuestos, donde la coordinación del metal aumenta la actividad de la cloroquina o sus derivados.

Para dar una explicación a este tipo de resultados, desde hace tiempo se ha propuesto un mecanismo que involucra la posible interacción de este tipo de complejos de coordinación con el ADN.

En décadas pasadas la cloroquina y otros compuestos relacionados representaban fármacos cuya actividad antimalárica ampliamente demostrada se relacionaba con su capacidad de formar complejos de intercalación con el ADN (Lerman, 1963), por lo que se propuso que eran capaces de inhibir la síntesis del



ADN y ARN del parásito. Sin embargo, posteriores estudios cuestionaron este mecanismo de acción (Davidson y col., 1975 y 1977), planteando que dicha actividad no está correlacionada con la interacción al ADN en este tipo de compuestos y que al parecer el mecanismo de acción común de los mismos está relacionado con la inhibición en la formación de hemozoína, proponiéndose que la interacción con el ADN es un efecto secundario que ocurre sólo con la muerte del parásito y no es significativo para la actividad, ya que a dosis normales de la droga no se afecta la síntesis de ácidos nucleicos. En la actualidad este tema vuelve a tomar fuerza por la evaluación de la criptolepina, un



alcaloide tipo indolquinolina, que ha demostrado una potente actividad antiplasmodial y que al mismo tiempo es un intercalador de ADN (Labaied y col., 2000; Wright y col., 2001; Lisgarten y col., 2002; Feiz y col., 2004) con propiedades citotóxicas.

Por tal motivo, los complejos de oro, rodio y rutenio sintetizados, empleando cloroquina, ferroquina y sus derivados como ligandos, también se evalúan como potenciales antimaláricos determinando su interacción con el ADN.

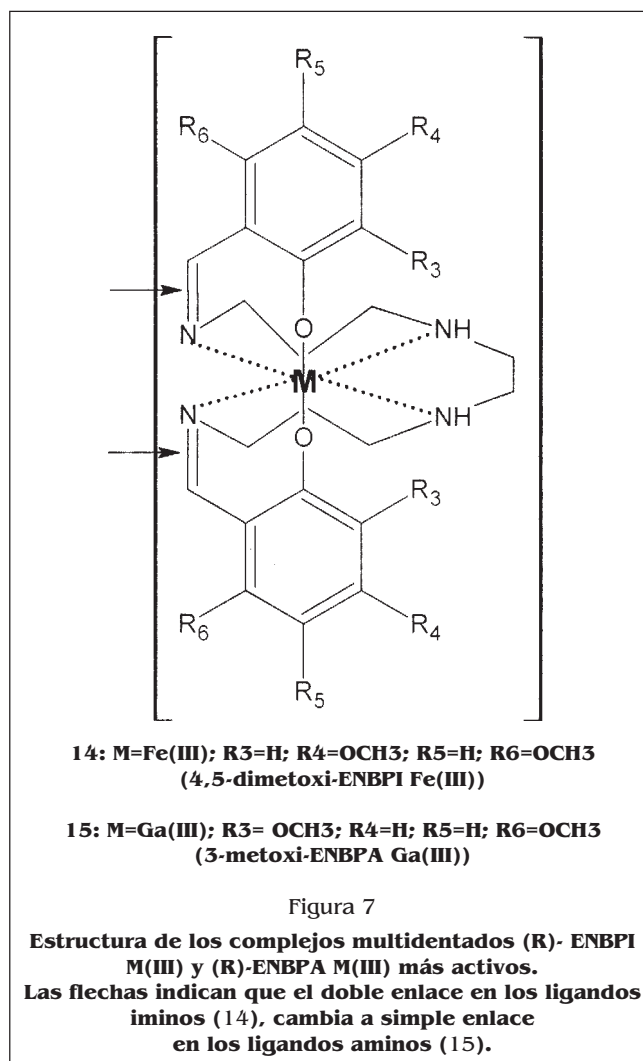
Los mecanismos por los cuales actúan los complejos organometálicos y de coordinación probablemente sean diferentes.

En términos generales se ha demostrado que la presencia de oro en ferroquina y sus derivados permite que la porción ferrocenil sea más resistente a la oxidación, haciendo a estos derivados más activos. Por otra parte se observa que los complejos de rodio son significativamente menos activos que los de oro, e incluso poseen de moderado a un fuerte efecto antagonista sobre la eficacia de los ligandos que contienen ferrocenil (Fig. 6).

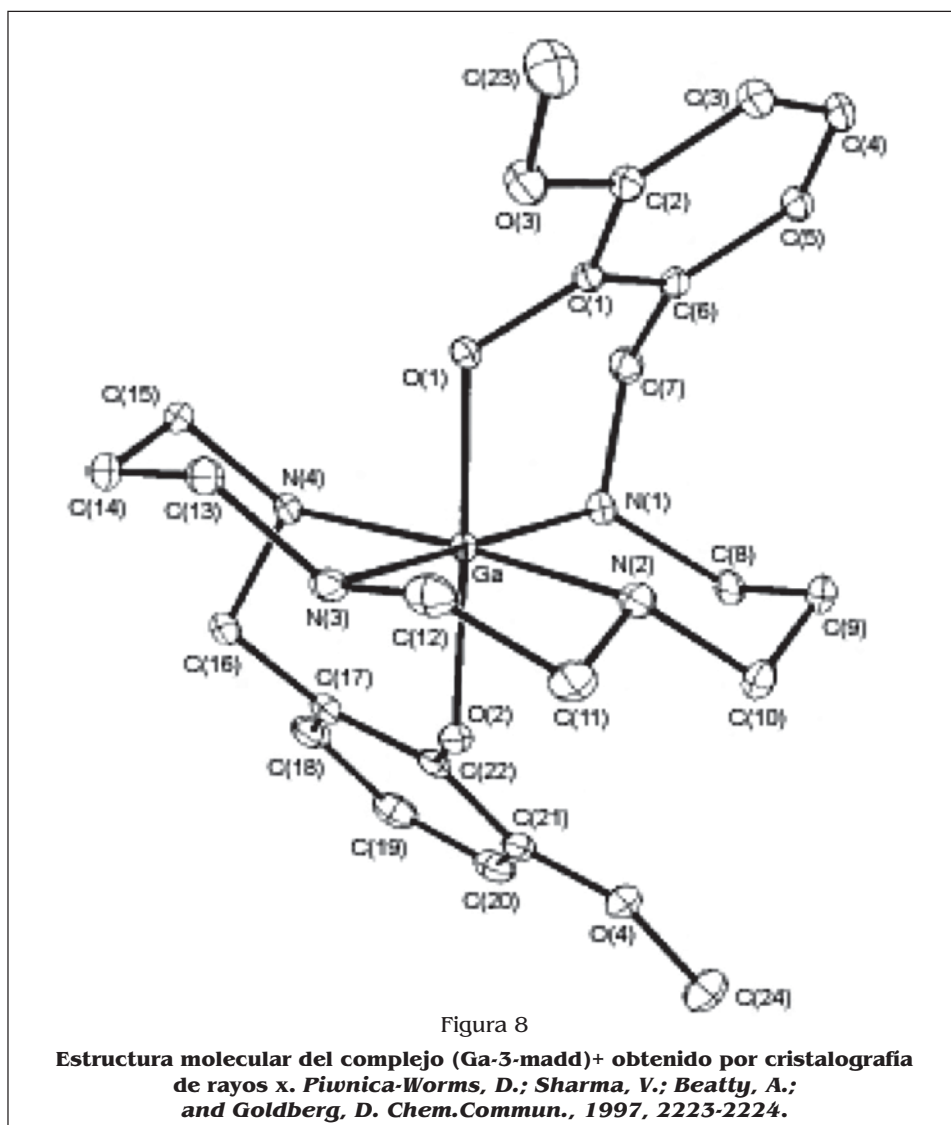
Nueva Clase de Complejos de coordinación multidentados de metal (III)

En vista de la importancia atribuida al metabolismo del hierro se han explorado una serie de agentes quelantes como la deferoxamina como potenciales antimaláricos terapéuticos. Cuando estos agentes se han administrado como ligandos libres han mostrado actividad antimalárica, quizás por interferir en el metabolismo del hierro, pero ninguno ha sido ideal en sus propiedades farmacológicas.

Se han empleado agentes quelantes hexadentados como los complejos tipo N_4O_2 , etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilimino))M(III), donde M es Al(III), Fe(III), Ga(III) e In(III) (Fig. 7), hidrolíticamente estables y cuyo potencial farmacológico depende de un balance entre hidrofobicidad y carga monocatiónica deslocalizada, constituyendo un grupo de compuestos quimiosensibilizadores cuyo mecanismo de acción parece estar relacionado con la acción de una proteína localizada en la membrana de la vacuola digestiva del parásito denominada glicoproteína-P (Pgh1), la cual actúa como una bomba de eflujo de compuestos que está implicada en la resistencia de drogas (Foote y col., 1990; Piwnica-Worms y col., 1996; Goldberg y col., 1997). Cuando se sobreexpresa esta proteína transmembranal, los fármacos se transportan al exterior celular, disminuyendo su concentración intracelular por debajo de la dosis activa, dejando de ser efectivos. Los compuestos quimiosensibilizadores, al inhibir dicha proteína, revierten los efectos de la misma restaurando las concentraciones intracelulares óptimas. En nuestro estudio se emplearon como ligandos el etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilimino)) (ENBPI) y el etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilamino)) (ENBPA), formando complejos estables como mezclas racémicas, obteniéndose como compuestos de mayor actividad, en cepas resistentes, el 4,6-dimetoxi-ENBPI Fe(III) y el 3-metoxi-ENBPA Ga(III) (Fig. 7). Este tipo de complejos muestra gran estabilidad a la hidrólisis neutra, además de que aparentemente no experimentan reacciones de desmetalación



o transmetalación al compararlos con la inactividad de las sales de Ga(III) por sí solas. Por otra parte, se ha logrado establecer que grupos de agentes capaces de incorporar metales biológicamente compatibles como el Fe(III) pueden actuar contra el mismo blanco molecular de la CQ, pero no ser susceptibles al mismo mecanismo de resistencia de la droga. Otros complejos de galio(III) reportados como potentes antimaláricos con un blanco selectivo sobre cepas resistentes a cloroquina lo constituyen el (1,2-bis(2-hidroxi-3-metoxibencil)-1,5,8,12-tetraazadodecano)galio(III) (**Ga-3-madd**)⁺ (Piwnica-Worms y col., 1997) y más recientemente el (1,2-bis(2-hidroxi-5-metoxibencil)-1,5,8,12-tetraazadodecano)galio(III) (**Ga-5-madd**)⁺ (Sharma y col., 2003), con una actividad muy superior al primero (Fig. 8). Es importante destacar ciertos aspectos del empleo del galio(III) como sustituto del hierro(III), como el hecho que ambos iones poseen la misma carga y poseen radios iónicos muy próximos en complejos hexacoordinados, lo cual resulta en similares químicas de coordinación. Por otra parte, los complejos de hierro(III) en solución generan las amplias bandas anchas y



la pobre resolución características de los espectros de RMN debido al alto spin del ión, mientras que el galio (III) es diamagnético, facilitándose este tipo de estudio espectroscópico.

Conclusiones

A pesar de que el estudio de los complejos metálicos con potencial actividad antimalárica es relativamente reciente, las investigaciones de los últimos años han generado resultados positivos centrados en su importancia como una de las principales estrategias para afrontar la propagación de la resistencia hacia múltiples fármacos. De todos los compuestos, quizás los derivados de ferroquina son los que probablemente posean mayor viabilidad para comenzar a emplearse comercialmente como agente terapéutico. Sin embargo, el estudio de complejos metálicos empleando agentes quelantes, y la búsqueda de ligandos orgánicos que puedan emplearse como drogas patro-

nes para la síntesis de nuevos complejos metálicos que realcen la actividad antimalárica, como puede ser el caso de los derivados de la criptolepina, sigue representando un reto en el área de la síntesis de complejos metálicos con aplicación medicinal.

Referencias bibliográficas

- ATTEKE, C.; MEZUI ME NDONG, J.; AUBOUY, A.; MACIEJEWSKI, L.; BROCARD, J.; LÉIBIBI, J. & DELORON, P.; 2003. In vitro susceptibility to a new antimalarial organometallic analogue, ferroquine of *Plasmodium falciparum* isolates from the Haut-Ogooué region of Gabon. *J. Antimicrob. Chemother.* 51: 1021-1024.
- BENDRAT, K.; BERGER, B.J. & CERAMI, A.; 1995. Haem polymerization in malaria. *Nature.* 378: 138-139.
- BIOT, C.; DELHAEL, L.; ABESSOLO, H.; DOMARLE, O.; MACIEJEWSKI, L.A.; MORTUAIRE, L.; DELCOURT, P.; DELORON, P.; CAMUS, D.; DIVE, D. & BROCARD, J.S.; 1999. Novel metallocenic compounds as antimalarial agents. Study of the position of ferroquine in chloroquine. *J. Organometall. Chem.* 589: 59-65.

- BIOT, C.; DELHAES, L.; N'DIAYE, C.M.; MACIEJEWSKI, L.A.; CAMUS, D.; DIVE, D. and BROCARD, S.; 1999. Synthesis & Antimalarial Activity in Vitro of Potential Metabolites of Ferrochloroquine and Related Compounds. *Biorg. Med. Chem.* 7: 2843-2847.
- BIOT, C.; DELHAEL, L.; MACIEJEWSKI, L.A.; MORTUAIRE, M.; CAMUS, D.; DIVE, D. & BROCARD, J.S.; 2000. Synthetic ferrocenic mefloquine and quinine analogues as potential antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* 35: 707-714.
- BIOT, C.; 2004. Ferroquine: A new weapon in the fight against malaria. *Curr. Med. Chem. Anti-Infective-Agents.* 3: 135-147.
- BLAUER, G. & Akkawi, M.; 2002. Alcohol-water as a novel medium for b-hematin preparation. *Arch. Biochem. Biophys.* 398: 7-11.
- BROCARD, J.; BIOT, C.; GLORIAN, G. & MACIEJEWSKI, L.; 1997. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of a new ferrocene-chloroquine analogue. *J. Med. Chem.* 40: 3715-3718.
- CHARRAHER, Ch.; PITTMAN, Ch.; SHEATS, J. & ZELDIN, M.; 2004. *Macromolecules containing metal and metal-like elements*. Vol. 3. Biomedical Applications. John Wiley and sons, Inc., pp. 1-18.
- CHAUHAN, V.; LYNN, A.; CHANDRA, S. & MALHOTRA, P.; 1999. Heme binding and polymerization by Plasmodium falciparum histidine rich protein II: Influence of pH on activity and conformation. *FEBS Lett.* 459: 267-271.
- CHIBALE, K.; MOSS, J.; BEAGLEY, P.; BLAKIE, M.A.; CLARKSON, C. & SMITH, P.; 2002. Synthesis and antimalarial activity in vitro of new ruthenocene-chloroquine analogues. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 4426-4433.
- CHIBALE, K.; MOSS, J.; BEAGLEY, P.; BLAKIE, M.A.; CLARKSON, C.; MEIJBOOM, R.; SMITH, P. & SU, HONG.; 2003. Synthesis and antiplasmodial activity in vitro of new ferrocene-chloroquine analogues. *Dalton Trans.* 3046-3051.
- DAVIDSON, M.; GRIGGS, B.; BOYKIN, D.W. & WILSON, W.D.; 1975. Mefloquine, a clinically useful quinolinemethanol antimalarial which does not significantly bind to DNA. *Nature.* 254: 632-634.
- DAVIDSON, M.; GRIGGS, B.; BOYKIN, D.W. & WILSON, W.D.; 1977. Molecular structural Effects Involved in the interaction of quinolenemethanolamines with DNA. Implications for antimalarial action. *J. Med. Chem.* 20: 1117-1122.
- DELHAES, L.; BIOT, C.; BERRY, L.; DELCOURT, P.; MACIEJEWSKI, L.A.; MACIEJEWSKI, L.A.; CAMUS, D.; BROCARD, J.S. & DIVE, D.; 2002. Synthesis of ferroquine enantiomers : first investigation of effects of metallocenic chirality upon antimalarial activity and cytotoxicity. *ChembioChem.* 3: 418-423.
- DOMARLE, O.; BLAMPAIN, G.; AGNANIET, H.; NZADIYABI, T.; LÉBIBI, J.; BROCARD, J.; MACIEJEWSKI, L.; BIOT, C.; GEORGES, A.J. & MILLET, P.; 1998. In vitro antimalarial activity of a new organometallic analogue, ferrocene-chloroquine. *Antimcr. Agents Chemother.* 42: 540-544.
- DORN, A.; STOFFEL, R.; MATILDE, H.; BUBENDORF, A. & RIDELEY, R.; 1995. Malarial haemozoin support haem polymerization in the absence of protein. *Nature.* 374: 269-271.
- DORN, A.; VIPPAGUNTA, S.R.; MATILDE, H.; BULENDORF, A.; VENNESTROM, J.L. & RIDLEY, R.G.; 1998. A comparison and analysis of several ways to promote haematin (haem) polymerization and an assessment of its initiation in vitro. *Biochem. Pharmacol.* 55: 737-747.
- DORN, A.; VIPPAGUNTA, S.R.; MATILDE, H.; JACQUET, C.; VENNESTROM, J.L. & RIDLEY, L.G.; 1998. An assesment of drug – haematin binding as a mechanism for inhibition of haematin polymerization by quinoline antimalarials. *Biochem. Pharmacol.* 55: 727-736.
- EGAN, T.; ROSS, D. & ADAMS, P.; 1994. Quinoline antimalarial drugs inhibit spontaneous formation of Beta-haematin (malaria pigment). *FEBS Lett.* 352: 54-57.
- EGAN, T.J.; MAVUSO, W. & NCOKAZI, K.; 2001. The mechanism of b-hematin formation in acetate solution. Parallels between hemozoin formation and biomineralization processes. *Biochemistry.* 40: 204-213.
- EGAN, T.; 2002. Discovering antimalarials: A new strategy. *Chem. Biol.* 9: 852-853.
- EGAN, T.J.; 2004. Haemozoin formation as a target for the rational design of new antimalarials. *Drug Design Rev.* 1: 93-110.
- FEIZ, M.H.; DODSON, H.I. & WRIGHT, C.W.; 2004. Effects cryptolepine, 2,7-dibromocryptolepine and standard drug on hemoglobin accumulation in cultured malaria parasites. *Iranian J. Pharm. Res.* 2: 18-18.
- FITCH, C.D.; 2004. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids, and the antimalarial actions of quinoline drugs. *Life Sciences.* 74: 1957-1972.
- FOOTE, S.J.; KYLE, D.E.; MARTIN, R.K.; ODUOLA, A.M.; FORTSYTH, K.; KEMP, D.J. & COWMAN, A.F.; 1990. Several alleles of the multidrug resistance gene are closely linked to chloroquine resistance in Plasmodium falciparum. *Nature.* 345: 255-258.
- GOLDBERG, D.; SHARMA, V.; OKSMAN, A.; GUZMAN, I.; WELLEMS, T. & PIWNICA-WORMS, D.; 1997. Probing the chloroquine resistance locus of Plasmodium falciparum with a novel class of multidentate metal (III) coordination complex. *J. Biol. Chem.* 272: 6567-6572.
- HEMPELMANN, E. & EGAN, T.J.; 2002. Pigment byocrySTALLIZATION in Plasmodium falciparum. *Trends Parasitol.* 18: 11.
- HEMPELMANN, E.; MOTTA, C.; HUGHES, R.; WARD, S. & BRAY, P.; 2003. Plasmodium falciparum: Sacrificing membrane to grow crystals. *Trends Parasitol.* 19: 23-26.
- HOMEWOOD, C.A.; WARHURST, D.C.; PETERS, W. & BAGGLEY, V.C.; 1972. Lysosomes, pH, and the antimalarial action of chloroquine. *Nature.* 235: 50-52.
- HOWARD, R.J.; PANTON, L.J.; MC PHIE, P.; MALOY, W.L.; WELLEMS, T.E. & TAYLOR, D.W.; 1989. Purification and partial characterization of a unusual protein of Plasmodium falciparum histidine-rich protein II. *Mol. Biochem. Parasitol.* 35: 149-160.
- KOCHAN, I.; 1973. The role of iron in bacterial infections with special consideration of host-tubercle bacillus interaction. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 60: 1-30.
- LABAIED, M.; ARZEL, E.; GODARD, A.; MARSAIS, F.; QUEGUINER, G.; ROCCA, P. & GRELLIER, P.; 2000. In vitro antimalarial and antitrypanosomal activities of Delta-carbolines alkaloids. *J. Eukar. Microb.*
- LERMAN, L.S.; 1963. The structure of the DNA-acridine complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 49: 94-102.
- LISGARTEN, J.N.; COLL, M.; PORTUGAL, J.; WRIGHT, C.W. & AYMANNI, J.; 2002. The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nat. Struct. Biol.* 1: 57-60.

- MARLETTA, M.A.; CHOI, C.; CERDA, J.F.; CHU, H. & BABCOCK, G.; 1999. Spectroscopic characterization of the heme-binding sites in Plasmodium falciparum histidine-rich protein 2. *Biochemistry*. 38: 16916-16924.
- MOSS, J. R.; BLACKIE, M.; BEAGLEY, P.; CHIBALE, K.; CLARKSON, C. & SMITH, P.; 2003. Synthesis and antimalarial activity of new heterobimetallic complexes: Rh and Au derivatives of chloroquine and a series of ferrocenyl-4-amino-7-chloroquinolines. *J. Organometall.Chem.* 688: 144-152.
- PAGOLA, S.; STEPHEN, P.W.; BOHLE, D.S.; KOSAR, A. & MADSEN, S.; 2000. The structure of malaria pigment b-hematin. *Nature*. 404: 307-310.
- PANDEY, A.; BISHT, H.; BABBARWAL, V.; SRIVASTAVA, J.; PANDEY, K. & CHAUMAN, V.; 2001. Mechanism of malarial haem detoxification inhibition by chloroquine. *Biochem. J.* 355: 333-338.
- PAYTON, D.; KELLY, J.; WINTER, R. & RISCOE, M.; 2001. A spectroscopic investigation of the binding interactions between 4,5 dihydroxanthone and heme. *J. Inorg. Biochem.* 86: 617-625.
- PETO, T.E.A. & THOMPSON, J.L.; 1986. A reappraisal of the effects of iron and desferroximine on the growth of Plasmodium falciparum in vitro: the unimportance of serum iron. *Br. J. Haematol.* 63: 273-280.
- PIWNICA-WORMS, D.; SHARMA, V. & CRANKSHAW, C.; 1996. Effects or multidrug resistance (MDR1) P-Glycoprotein expression levels and coordination metal on the cytotoxic potency of multidentate (N₄O₂) etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilimino))M(III) cations. *J. Med. Chem.* 39: 3483-3490.
- PIWNICA-WORMS, D.; SHARMA, V.; BEATTY, A. & GOLDBERG, D.; 1997. Structure of a novel antimalarial gallium (III) complex with selective activity against chloroquine-resistant Plasmodium falciparum. *Chem. Commun.* 2223-2224.
- PRADINES, B.; FUSAI, T.; DARES, W.; LOLOGE, V.; ROGIER, C.; MILLET, P.; PASCONI, E.; KOMBILA, M. & PARZY, D.; 2001. Ferrocene-chloroquine analogues as antimalarial agents: in vitro activity of ferrochloroquine against 103. Gabonese isolates of Plasmodium falciparum. *J. Antimicrob. Chemother.* 48: 179-184.
- RAYNES, K.; DEADY, L.; FOLEY, M. & TILLEY, L.; 1996. Novel bisquinoline antimalarials. Synthesis, antimalarial activity and inhibition of haem polymerization. *Biochem. Pharmacol.* 52: 551-559.
- RAVENTOS-SUAREZ, C.; POLLACK, S. & NAGEL, R.S.; 1982. Plasmodium falciparum: Inhibition of in vitro growth by deferoxamine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 919-922.
- SÁNCHEZ-DELGADO, R.; NAVARRO, M.; PÉREZ, H. & URBINA, J.; 1996. Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. 2. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of new ruthenium- and rhodium-chloroquine complexes. *J. Med. Chem.* 39: 1095-1099.
- SÁNCHEZ-DELGADO, R.; NAVARRO, M. & PÉREZ, H.; 1997. Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. 3. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of the new gold chloroquine complex (Au(PPh₃)(CQ))PF₆. *J. Med. Chem.* 40: 1937-1939.
- SHARMA, Y.D.; 1988. Genomic organization, structure and possible function of histidine-rich proteins of malaria parasites. *Int. J. Biochem.* 20: 471-477.
- SHARMA, V.; PCHESKEY, J.; POLYAKOV, V.; HARPSTRITE, S.; OKSMAN, A.; GOLDBERG, D. & PIWNICA-WORMAS, D.; 2003. Synthesis, characterization and molecular structure of a gallium (III) complex of an amine- phenol ligand with activity against chloroquine- sensitive Plasmodium falciparum strains. *J. Inorg. Biochem.* 93: 265-270.
- SLATER, A.F.G.; SWIGGARD, W.J.; ORTON, B.R.; FLITTER, W.D.; GOLDBERG, D.E.; CERAMI, A. & HENDERSON, G.B.; 1991. An iron-carboxylate bond links the heme units of malaria pigment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 325- 329.
- SULLIVAN, D.; GLUZMAN, I. & GOLDBERG, D.; 1996. Plasmodium hemozoin formation mediated by histidine-rich proteins. *Science*. 271: 219-222.
- SULLIVAN, D.J.; 2002. In biopolymers. Biopolymers and biodegradation of synthetic polymers. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co.; Weinheim, Germany, pp. 129-163.
- SULLIVAN, D.J. & CHONG, C.R.; 2003. Inhibition of heme crystal growth by antimalarials and other compounds: implications for drug discovery. *Biochem. Pharmacol.* 66: 2204-2212.
- TILLEY, L.; LORIA, P.; MILLER, S. & FOLEY, M.; 1999. Inhibition of the peroxidative degradation of haem as the basis of action of chloroquine and other quinoline antimalarials. *Biochem. J.* 339: 363-30.
- VIPPAGUNTA, S.R.; DORN, A.; MATILE, H.; BATTACHARJEE, A.; KARLE, J.; ELLIS, W.Y.; RIDLEY, R. & VANNERSTROM, J.L.; 1999. Structural specificity of chloroquine-hematin binding related to inhibition of hematinpolymerization and parasite growth. *J. Med. Chem.* 42: 4630-4639.
- WALKER, L.; TEKWANI, B.; TRIPATHI, A. & KHAN, S.; 2004. Spectrophotometric determination of the novo hemozoin/b-hematin formation in an in vitro assay. *Analytical Biochem.* 325: 85-91.
- WEINBERG, E.D.; 1974. Iron and susceptibility to infectious disease. *Science*. 184: 952-956.
- WRIGHT, C.W.; ADDAE-KYEREME, J.; BREEN, A.; BROWN, J.E.; COX, M.F.; CROFT, S.L.; GÖKÇEK, Y.; KENDRICK, H.; PHILLIPS, R.M. & POLLET, P.; 2001. Synthesis and evaluation of cryptolepine analogues for their potential as new antimalarial agents. *J. Med. Chem.* 44: 3187-3194.

Recibido: abril 2005
 Aceptado: julio 2005