

ACTIVIDAD TRIPANOCIDA DE *N*-BENCENOSULFONILOS DE BENZIMIDAZOL Y SU INFLUENCIA EN EL METABOLISMO GLICOLÍTICO DEL PARÁSITO

Gisele E. Miana^a, Manuel Sánchez-Moreno^b y María Rosa Mazzieri^a

^a Departamento de Farmacia, Fac. de Ciencias Químicas, Univ. Nacional de Córdoba Haya de la Torre esq. Medina Allende, Córdoba, Argentina: mrmazzie@fcq.unc.edu.ar

^b Departamento de Parasitología, Fac. de Ciencias, Univ. de Granada Severo Ochoa s/n, Granada, España msanchem@ugr.es

Introducción

En nuestros laboratorios hemos sintetizado, aislado y purificado 14 *N*-bencenosulfonilos de benzimidazol (*N*-BSBZD). Estos compuestos se integraron a una quimioteca focalizada de derivados de *N*-bencenosulfonilos de heterociclos que responde a principios de diseño racional y cuyas propiedades moleculares se ajustan a los actuales criterios *druglike*. Resultados preliminares de un *screening* de alto rendimiento (HTS) sobre 109 derivados de la quimioteca, mostraron una actividad interesante sobre diferentes formas de *Trypanosoma cruzi* (*Tc*).¹⁻⁴ En función de estos antecedentes y, dentro de un proyecto de búsqueda de nuevos fármacos antichagásicos, se planteó el objetivo de medir la actividad *in vitro* de los *N*-BSBZD sobre la forma epimastigote (extracelular) de *Tc* y determinar la concentración inhibitoria, CI_{50} . También, se determinó su toxicidad inespecífica sobre células Vero. Finalmente, con el fin de investigar sobre posibles mecanismos de acción, se estudió la influencia de los derivados sobre el metabolismo de la glucosa del parásito.

Metodología

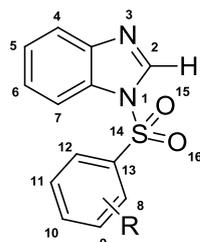
Se ensayaron 14 derivados *N*-BSBZD sobre epimastigotes de *Tc*, los mismos fueron disueltos en el sistema de solventes PEG:Etanol (7:3). Luego se preparó una solución 200 μ M en medio MTL. Los epimastigotes de *Tc* fueron incubados durante 72 hs. con los *N*-BSBZD a 1,10,25 y 50 μ M en medio MTL al 10% de suero fetal bovino inactivado. Luego de este tiempo, se determinó el número de epimastigotes de *Tc*, utilizando una cámara de Neubauer por triplicado⁵, para luego poder calcular sus CI_{50} .

Los ensayos de citotoxicidad inespecífica fueron realizados contra células Vero (cultivadas en medio RPMI al 10% de suero fetal bovino inactivado) incubado con el *N*-BSBZD a las mismas concentraciones. La viabilidad celular fue determinada después de 72 hs., por citometría de flujo. Ambas determinaciones fueron expresadas como CI_{50} y determinadas en comparación a un cultivo control. Además se obtuvo el índice de selectividad, IS, como la relación entre la CI_{50} células Vero y CI_{50} epimastigotes *Tc*.

Para obtener información acerca de cómo los *N*-BSBZD afectan el metabolismo de la glucosa, la excreción final de los productos fue identificada mediante espectros ¹H RMN de epimastigotes de *Tc* después del tratamiento con los mismos a sus CI_{25} y comparándolos con un control de epimastigotes mantenidos en medio MTL al 10 % de suero fetal bovino inactivado libre de producto por 96 hs. luego de la inoculación con el parásito, viéndose las señales características de acetato, L-alanina, L-lactato, piruvato y succinato.⁶

Resultados

Las figuras 1 y 2 muestran la estructura de los 14 *N*-BSBZD y del Benzimidazol (BZN, fármaco de referencia) ensayados sobre epimastigotes de *Tc*. Entre ellos, 9 mostraron una CI_{50} menor que el BZN.



Compuesto	R	Compuesto	R
1	H	8	3-NO ₂
2	NHCOCH ₃	9	2-NO ₂
3	4-NO ₂	10	3-CF ₃
4	4-CH ₃	11	4-CF ₃
5	4-F	12	4-COCH ₃
6	4-Cl	13	4-(CH ₃) ₃
7	4-Br	14	2,3,5,6-(CH ₃) ₃

Figura 1. Estructura de los *N*-BSBZD

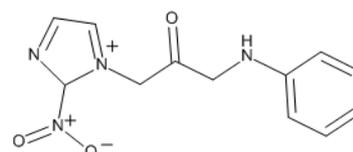


Figura 2. Benznidazol (BZN)

Los compuestos más activos fueron: **3, 8, 9 y 14** y todos menos tóxicos que el BZN. El orden de selectividad fue **14>1>7>11>2>8>3>5>9>10>12=4>13>6>BZN**. El estudio de cuantificación de metabolitos mediante ¹H-RMN permitió demostrar que los derivados **1** y **8** afectarían el metabolismo de la glucosa, ya que la producción de algunos metabolitos (acetato, L-alanina, L-lactato, succinato y piruvato) disminuyó en más del 10%.

Discusión y conclusiones

Los *N*-BSBZD han demostrado ser más selectivos sobre epimastigotes de *Tc*, ya que comparados con BZN, su actividad fue mayor y su toxicidad menor. Esto los convierte en prototipos prometedores que se suman a los esfuerzos internacionales de búsqueda de nuevos compuestos para tratar la enfermedad de Chagas.

Por otra parte, la disminución en la excreción de los metabolitos de la vía glicolítica (derivado **8**) estaría aportando conocimientos a un posible mecanismo de acción. Esta vía juega un rol esencial en la provisión de ATP en el *Tc* sin afectar las correspondientes enzimas en el huésped humano. Por estas razones, las enzimas involucradas en dicho proceso metabólico son consideradas como dianas prometedoras para el descubrimiento de nuevos fármacos anti tripanosoma.⁷

Referencias

- 1) Pagliero RJ, Lusvarghi S, Pierini AB, Brun R, Mazzieri MR. Lett. Drug. Discov. 2010, 7(6):461-70.
- 2) Pagliero RJ Pierini AB, Brun R, Mazzieri MR. Bioorg. Med. Chem. 2010, 18, 142-50.
- 3) Hergert LY, Nieto M, Becerra MC, Albesa I, Mazzieri MR. Lett. Drug Des. Discov. 2008, 5, 313-318.
- 4) Becerra MC, Guiñazú N, Hergert LY, Pellegrini A, Mazzieri MR, Gea S, Albesa I. Exp Parasitol. 2012, 131, 57-62.
- 5) Muro B, Reviriego F, Navarro P, Marín C, Ramírez-Macías I, Rosales MJ, Sánchez-Moreno M, Arán VJ. European Journal of Medicinal Chemistry 2014, 74, 124-134.
- 6) Bringaud F, Rivière L, Coustou V. Mol. Biochem. Parasitol. 2006, 149, 1-9.
- 7) Verlinde CLMJ, Hannaert V, Blonski C, Willson M, Périé JJ, Fothergill-Gilmore LA, Oppendoes FR, Gelb MH, Hol WGJ, Michels PAM. Drug Resistance Updates. 2001, 4, 1-14