



Propiedades químicas estructurales de compuestos que actúan contra el *Trypanosoma brucei* (Revisión)

Alicia Ponte-Sucre ¹.

¹ Doctor en Farmacología, UCV Laboratorio de Fisiología Molecular, Instituto de Medicina Experimental, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. aiponte@gmail.com

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 21 de Febrero del 2015 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Se resume en este artículo la labor incansable que durante doce años se ha realizado en el marco de un proyecto multicéntrico, liderado principalmente por los Prof. Jörg Hacker, Ulrike Holzgrabe y Gerhard Bringmann de la Universidad de Würzburg en Alemania. Más de 12 laboratorios universitarios distribuidos en las Facultades de Química, Medicina, Farmacia y Biología, un laboratorio central de análisis de los compuestos sintetizados y más de 100 personas interactuando para diseñar y probar compuestos en contra de 11 agentes patógenos, entre ellos compuestos contra *Trypanosoma brucei* spp., agente causal de la enfermedad del sueño. Se enfatizan en este resumen los estudios llevados a cabo con compuestos tripanocidas, que junto con los leishmanicidas fueron los más trabajados en esta

exitosa interacción. La tripanosomiasis es una enfermedad transmitida por vectores, letal si no se trata. Aunque en la enfermedad en los humanos la incidencia anual solía ser muy alta, recientemente se ha reducido a menos de 10.000 por año. Este hecho se ha esgrimido para aseverar que “no es necesario invertir en el desarrollo de nuevos fármacos contra la enfermedad del sueño”. La misma, sin embargo, puede retornar, como lo ha hecho en el pasado, cada vez más agresiva. Dos fármacos se encuentran en estudios clínicos gracias a iniciativas de la DNDi (por sus siglas en inglés, Drugs for Neglected Diseases initiative), y de otras asociaciones sin fines de lucro. Debido a que el porcentaje de supervivencia de los candidatos a droga es extremadamente baja, dos es un número ínfimo de compuestos, especialmente si ninguno se encuentra en fase tres de evaluación clínica. La potencia de un compuesto (reflejada en su IC50), no necesariamente se traduce en el “mejor fármaco a nivel del mercado”. Además de la actividad que las moléculas deben tener en contra del organismo seleccionado, sus propiedades de absorción, distribución, metabolismo y excreción, son fundamentales para la selección de candidatos a ingresar en estudios farmacológicos en animales y preclínicos. En este trabajo, y con el objetivo de utilizar las propiedades de transporte a través de membranas, como herramienta para refinar la selección de compuestos líderes a ingresar a estudios preclínicos, se estableció la correlación entre la actividad tripanocida de moléculas de diferentes clases estructurales, sintetizadas en el marco de nuestra plataforma de amplio espectro, con el área de superficie polar (en inglés, PSA) de cada una de ellas. Los datos sugieren una correlación sigmoideal entre el PSA y la actividad tripanocida de los compuestos y confirma la utilidad de este parámetro para la comprensión de la relación entre la potencia de un compuesto y sus características químicas.

PALABRAS CLAVE: Trypanosoma brucei, Tripanosomiasis, Compuestos líder, Propiedades químicas, ADME, PSA

CHEMICAL CHARACTERISTICS OF ACTIVE COMPOUNDS AGAINST TRYPANOSOMA BRUCEI

SUMMARY

This article summarizes the tireless work that for twelve years has been conducted in the framework of a multicenter project, led by Prof. Jörg Hacker, Ulrike Holzgrabe and Gerhard Bringmann from the University of Würzburg in Germany. More than 12 university laboratories distributed in the Faculties of Chemistry, Medicine, Pharmacy and Biology, a central laboratory to analyze the synthesized compounds and over 100 people interacting to design and test compounds against 11 pathogens, including trypanocidal compounds. My summary emphasizes the work on trypanocidal compounds, which together with the leishmanicidals were the ones with which I worked mostly. Trypanosomiasis is a vector-borne disease, fatal if untreated. Although in the human disease the annual incidence used to be very high, it has recently been reduced to less than 10,000 cases per year. This statement has been used to assert that “it is not necessary to invest in the development of new drugs against sleeping sickness”. The disease, however, can return as it has done in the past, increasingly aggressive. Two drugs are being clinically studied by the DNDi initiatives (for its acronym in English, Drugs for Neglected Diseases initiative), and non-profit associations. Since the survival rate of drug candidates is extremely low, two is a very small number of compounds, none is in phase three of clinical evaluation. The potency of a compound (reflected in its IC50), not necessarily translates into the “best drug to market level”. In addition to the activity that molecules must

have against the selected organism, its properties of absorption, distribution, metabolism and excretion, are essential for the selection of candidates to enter in pharmacological and preclinical animal studies. In this work, and with the aim of using transport properties across membranes, as a tool to refine the selection of lead compounds to enter preclinical studies, the correlation established between trypanocidal activity of molecules of different structural classes, synthesized under a broad-spectrum platform with polar surface area (PSA), has been analyzed. The data suggest a sigmoidal correlation between PSA and trypanocidal activity of the compounds and confirms that this parameter may be useful for understanding the relationship between the power of a compound and its chemical characteristics.

KEY WORDS: Trypanosoma brucei Trypanosomiasis, Lider compounds, Chemical properties, ADME, PSA

PROPIEDADES QUÍMICAS ESTRUCTURALES DE COMPUESTOS QUE ACTÚAN CONTRA EL *TRYPANOSOMA BRUCEI* (REVISIÓN)

INTRODUCCIÓN

La Tripanosomiasis humana africana (THA) es también conocida como la enfermedad del sueño. Esta enfermedad, producida por parásitos del tipo *Trypanosoma brucei gambiense* y *T. b. rhodesiense*, es invariablemente fatal si no se trata. En África, las regiones afectadas por la THA comprenden una superficie de unos 8 millones de kilómetros cuadrados entre 14 grados de latitud Norte y 20 grados de latitud Sur ⁽¹⁾. *T. b. rhodesiense* y *T. b. gambiense* pueden alojarse en animales; por lo tanto, especialmente aquellos que son domesticados, pueden servir como un reservorio importante del trypanosoma. Sin embargo, la función precisa del reservorio animal en la forma gambiense de la enfermedad aún no está completamente definida. En el siglo XX ocurrieron tres grandes epidemias de THA, una entre 1896 y 1906, una segunda en 1920 y la más reciente en 1970, la cual duró hasta los 1990 ⁽²⁾.

La tripanosomiasis africana también afecta a los animales. La enfermedad veterinaria se conoce con el nombre de Nagana, término que incluye la infección con *T. congolense*, *T. vivax* y *T. brucei brucei*. Desde el punto de vista veterinario, el padecimiento es importante ya que afecta el ganado bovino, y puede causar serias pérdidas en cerdos, camélidos, cabras y borregos, por lo cual es un obstáculo para el desarrollo económico de las zonas rurales afectadas ⁽³⁾.

Finalmente, la Surra, Mal de cadera, Murrina o Derrengadera es causada por el *T. evansi*, parásito que en condiciones naturales infecta principalmente a los équidos. Los caballos, burros, asnos, búfalos y en menor medida vacas, cabras, ovejos, perros y gatos pueden sufrir la enfermedad con tasas de morbilidad y mortalidad que suelen ser altas ⁽⁴⁾. En Venezuela se detectó su presencia hace unos 30 años, y en 1996 se obtuvo el primer aislado de caballo infectado naturalmente, en la localidad apureña de Mantecal ⁽⁵⁾.

La tripanosomiasis causada por *T. evansi* se distribuye ampliamente en regiones de clima tropical y semi-tropical como el norte de África, China, Filipinas, India, Indonesia, Malasia, Rusia, América del Centro y América del Sur ^(6,7,8). En Venezuela, la infección por *T. evansi* se

extiende por la zona de los llanos (principalmente Apure y Guárico), donde la infección es epizootica⁽⁹⁾. El Chigüire (*Hydrochoerus hydrochoeris*), silvestre en la región, es un reservorio natural del *T. evansi*, con un porcentaje de infección activa que oscila entre un 8,5 y 9,4 % y una sero-prevalencia entre 47 y 71 %⁽⁵⁾.

Nagana y Surra son enfermedades responsables de pérdidas económicas cuantiosas, al disminuir la productividad de los animales de trabajo y la producción de leche, y producir pérdidas reproductivas. Adicionalmente, los costos del tratamiento son elevados⁽⁶⁾.

Tratamiento: La quimioterapia contra la THA está orientada a la etapa específica de la enfermedad en la cual se encuentre el paciente. Los fármacos utilizados datan de al menos 30 años, y su uso acarrea grandes desventajas. Los medicamentos empleados en la fase temprana de THA son menos tóxicos y más fáciles de administrar, los fármacos utilizados para la segunda etapa de THA son difíciles de aplicar, más tóxicos y necesariamente deben atravesar la barrera hematoencefálica. Todos producen efectos adversos peligrosos y, como ya se ha mencionado, frecuentemente son eficaces sólo contra una de las dos etapas de la enfermedad⁽¹⁰⁾.

Las drogas que se utilizan para tratar el ganado enfermo incluyen el aceturato de diminazeno, y el cloruro y bromuro de homidio. Estos dos últimos, junto con el isometamidio se utilizan también como medicamentos profilácticos. Lamentablemente, la eficacia de estos fármacos es cuestionable después de años de uso, probablemente debido a la selección de cepas resistentes a estos medicamentos⁽¹¹⁾. Hay unos pocos compuestos que pueden emplearse para tratar la Surra, por ejemplo, Suramine y Antricide. En estos casos hay que administrar concomitantemente fármacos estimulantes de la hematopoyesis, para evitar los efectos perjudiciales de la anemia⁽¹²⁾.

Una sinopsis de las drogas utilizadas para tratar la tripanosomiasis humana y veterinaria se lista en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de los medicamentos utilizados contra la tripanosomiasis, modificado de (2, 11, 12).

Droga	Nombre comercial	Trypanosomas susceptibles	Especies de mamíferos susceptibles
Suramine	Germanin®	<i>T.b. rhodesiense</i>	Estadio 1, humanos
Pentamidine	Pentacarinat®	<i>T.b. gambiense</i>	Estadio 1, humanos
Melarsoprol	Arsobal®	<i>T.b. rhodesiense</i> ²	
Nifurtimox	Lampit®	<i>T.b. rhodesiense</i> y <i>T.b. gambiense</i>	Estadio 1 y 2, humanos
Eflornithine	Ornidyl®	<i>T.b. gambiense</i>	Estadio 2, humanos
Nifurtimox-Eflornithine ¹		<i>T.b. gambiense</i>	Estadio 1 y 2, humanos
Quinapyramine dimethylsulfate	Antricide®	<i>T. evansi</i> , <i>T. brucei</i> , <i>T. equiperdum</i> .	Camellos, cerdos, búfalos
Quinapyramine prosalt	Trypacide® Noroquin® Quintrycide®	<i>T. evansi</i> , <i>T. brucei</i> , <i>T. equiperdum</i> .	Camellos, ganado vacuno, caballos
Suramine (no disponible)	Naganol®	<i>T. evansi</i> , <i>T. brucei</i> , <i>T. equiperdum</i>	Camellos, ganado vacuno, búfalos, caballos, perros
Diminazene aceturate	Berenil® Babesin®	<i>T.vivax</i> , <i>T. congolense</i> , <i>T.evansi</i> , <i>T. brucei</i>	Ganado vacunos, ovejos
Isometamidium chloride	Samorin® Trypamidium®	<i>T.vivax</i> , <i>T. congolense</i> , <i>T.evansi</i> , <i>T. brucei</i>	Ganado vacuno
Melarsenoxide cysteamine	Cymelarsan®	<i>T. evansi</i> and <i>T. brucei</i>	Camellos, caballos
Homidium chloride	Novidium®	<i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i>	Ganado vacuno, ovejos, camellos

En el caso de los humanos, el avance más reciente lo constituye la introducción en 2009 de la terapia combinada nifurtimox / eflornitine, (siglas en inglés, NECT) más segura y más eficaz y que simplifica el empleo de esta última en comparación con la monoterapia. Esta terapia combinada constituyó un paso fundamental en el tratamiento de la THA ⁽²⁾, principalmente por la reducción del tiempo de administración parental de eflornitine a una semana. Esta terapia combinada se considera el "primer medicamento nuevo" para THA en más de 25 años. Lamentablemente, no es eficaz contra *T. b. rhodesiense*. El nifurtimox tiene registro para el tratamiento de la tripanosomiasis americana producida por *T. cruzi*, o enfermedad de Chagas, pero no para la THA. Sin embargo, y a pesar de no haber sido aprobada por las agencias reguladoras de ningún país, esta asociación de medicamentos está incluida en la lista de medicinas esenciales de la OMS, quien la distribuye gratuitamente. No podemos soslayar la carga logística y financiera que representa esta terapia para los países que reportan la enfermedad en humanos ⁽¹³⁾.

SITUACIÓN ACTUAL

Las enfermedades infecciosas, entre ellas la tripanosomiasis, tienen en común el no ser

predecibles; poseer pocos mecanismos de transmisión; tener un impacto global; ser controlables con medidas de salud pública; y ser transmitidas por un solo agente, altamente adaptable, situación que le otorga inmensas ventajas evolutivas de supervivencia. Debido a ello, existe un reto constante entre el devenir del comportamiento humano y la adaptabilidad del agente infeccioso. Por otra parte, el trypanosoma es uno de los modelos celulares mejor estudiados, y su biología molecular, genética y metabolismo, así como los mecanismos inmunológicos desencadenados por la infección producida por este parásito, están ampliamente discutidos en libros de texto y bibliografía especializada. Finalmente, la historia de THA sugiere que la enfermedad puede haber sido un factor selectivo importante en la evolución de los homínidos, hecho que refuerza la certeza de que la enfermedad puede ser controlada, más no erradicada, debido a la co-evolución conjunta entre ambas especies. De hecho, la historia antigua y medieval indica que la tripanosomiasis africana afectó la vida de personas cuyo hogar era el África Sub-Sahara. Por su parte, la historia reciente analiza las especies causantes de la enfermedad, su modo de transmisión y el desarrollo de drogas para el tratamiento, así como los medios mediante los cuales se podría controlar la enfermedad. Estos estudios dejan en evidencia el hecho de que la producción de medicamentos contra la enfermedad del sueño no ha sido siempre exitosa por lo cual, persiste la búsqueda de nuevos medicamentos más baratos, mejores y específicos.⁽¹⁾

Sin embargo, y basados en el hecho de que el número de nuevos casos de tripanosomiasis notificados entre 2000 y 2012 ha disminuido un 73%, los objetivos de la OMS incluyen su eliminación como reto de salud pública para 2020. La OMS establece que para lograr este objetivo es fundamental reforzar y coordinar las medidas de control de la enfermedad y asegurar la continuidad de las actividades sobre el terreno entre ellas. Es decir: (1) reforzar los sistemas de vigilancia existentes; (2) asegurar la accesibilidad a las pruebas de diagnóstico y tratamiento; (3) apoyar el seguimiento del tratamiento y la aparición de fracaso terapéutico mediante la red; (4) desarrollar una base de datos de información y de análisis epidemiológicos, incluyendo un atlas sobre la tripanosomiasis africana, esto con la colaboración de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO); (5) realizar actividades de capacitación a nivel de las zonas endémicas; (6) prestar apoyo a la investigación operacional con miras a mejorar los instrumentos de tratamiento y diagnóstico; (7) promover la colaboración con la FAO en lo relativo a la tripanosomiasis veterinaria, y con el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) en lo concerniente a la lucha anti-vectorial mediante la esterilización de las moscas macho con radiación; (8) promover la sinergia de las actividades de lucha anti-vectorial de la Unión Africana dirigidas por la Campaña Panafricana de Erradicación de la Mosca Tsetse y la Tripanosomiasis.⁽²⁾

Todo esto pone sobre el tapete la necesidad de trascender el paradigma “que los estudios realizados en este organismo sean usados sólo como un modelo de biología celular y filogenético”⁽¹⁰⁾.

De hecho, al hacer una búsqueda del número de publicaciones aparecidas en los últimos cinco años, en la base de datos NCBI-PubMed, que incluyan los términos THA y ensayos clínicos, encontramos que los resultados refieren apenas unos 40 artículos. Unos ocho están relacionados con las drogas desarrolladas recientemente contra la enfermedad del sueño: fexinidazol, benzoxaborole SCYX-7158 y la parfuramidina análogo a pentamidina DB289. Al

hacer una búsqueda con el término *Trypanosoma* sólo, aparecen 4903 entradas, y al colocar los términos *Trypanosoma* y biología celular, aparecen 339 entradas. Estos números reflejan la dramática situación en la cual se encuentra el desarrollo de medicamentos en contra de estas enfermedades y enfatiza el hecho de que es imprescindible emplear la vasta información recabada en la literatura en pro del desarrollo de fármacos útiles para combatir estas devastadoras enfermedades. Veamos donde realmente nos encontramos en este campo, tomando como ejemplo la enfermedad en humanos.

El Fexinidazol fue desarrollado por Hoechst AG (ahora Sanofi-Aventis) en la década de 1980 como una droga antimicrobiana y antiparasitaria. En aquel momento no resultó, más ahora se ha vuelto a probar intensivamente en un modelo murino-de tripanosomiasis africana. Se encontró que el Fexinidazol es activo en este modelo de enfermedad. La droga, tiene biodisponibilidad por vía oral y atraviesa la barrera hematoencefálica; más aún, sus metabolitos, son eficaces como compuestos anti-THA en etapas avanzadas de la infección por *T. b. rhodesiense* y *gambiense*. Debido a ello esta droga se encuentra en ensayos clínicos de fase 2b desde mediados de 2012 ^(13,14).

El Benzoxaborole SCYX-7158 tiene potencia suficiente contra *T. b. rhodesiense* y *gambiense*. Adicionalmente, sus propiedades farmacocinéticas *in vitro* y luego de ser administrado de forma oral a roedores y primates, son adecuadas. Atraviesa la barrera hematoencefálica y es metabólicamente estable. Estas propiedades le adjudican la capacidad de ser útil en ambas etapas de la enfermedad. Debido a ello desde marzo de 2012 se encuentra en fase 1 de ensayo clínico ⁽¹⁵⁾.

El parfuramidine DB289 es un análogo de la pentamidina, ha estado en fase 3 de ensayos clínicos como medicamento oral contra la primera etapa de THA. Sin embargo, su toxicidad renal obligó a la culminación abrupta del ensayo ⁽¹⁶⁾.

La biodisponibilidad oral de fármacos anti-THA es un problema importante; debido a ello se ha intentado mejorar la escasa solubilidad en agua de algunos de ellos como el melarsoprol, al sintetizar complejos del fármaco con ciclodextrinas (CDs), a saber hidroxipropil-b-CD y metilado b-CD. Ambos complejos han sido exitosos en un modelo murino-THA en etapa tardía, aunque aún no se ha cuantificado su capacidad de producir los efectos secundarios graves ^(17,18).

En conclusión, el que haya al menos dos candidatos potenciales en ensayos clínicos, a fin de aumentar el abanico de medicamentos contra THA parece prometedor; es sin duda un avance en comparación con la situación de hace 10 años. Sin embargo, es mínimo, especialmente si consideramos que (a) ninguna de estas drogas se encuentra en fase 3; (b) hasta el 90 por ciento de los enfermos siguen muriendo, si llegan a la fase dos de la enfermedad; y (c) no existen candidatos para solventar la problemática veterinaria, que es inmensa.

Por ello, insistimos en la necesidad de ahondar en el desarrollo de fármacos tripanocidas, a pesar de que se esgrime el argumento de que la incidencia de casos y el número total de los mismos en África está disminuyendo ^(19, 20), y que la enfermedad veterinaria ataca zonas no

ubicadas en los países desarrollados. A pesar de los avances políticos y sociales que han ocurrido en África desde 1995, cuando la OMS denunció la situación endémica de la enfermedad en el continente, sigue siendo primordial luchar por el fortalecimiento de las instituciones para aumentar su capacidad de trabajar en pro del control de la enfermedad (19, 20, 21, 22).

NUESTRA CONTRIBUCIÓN

Las enfermedades tropicales desatendidas, THA entre ellas, necesitan sin duda más atención. Por ello es necesario allanar la distancia entre los hallazgos del laboratorio y las necesidades de los pacientes; la inequidad en salud que significa no hacer esto implica que las soluciones al reto, deben salir de enfoques no convencionales, donde los esfuerzos combinados de la academia y la industria farmacéutica puedan constituir una esperanza para disminuir el sufrimiento de las personas afectadas por esta enfermedad, sin olvidar el concepto moral de equidad de distribución y suministro de servicios de salud.

Durante los últimos doce años, en un consorcio de proyectos multicéntricos, liderado por los Prof. Jörg Hacker, Ulrike Holzgrabe y Gerhard Bringmann, llevados a cabo principalmente en la Universidad de Würzburg, Alemania y financiados por el Consejo Alemán de Investigación y Desarrollo (en alemán, DFG), pero con una red de colaboración extendida a lo largo de muchos países, incluyendo Venezuela, nos hemos dedicado a la síntesis de compuestos *de novo*, y semi-síntesis a partir de compuestos naturales activos, potencialmente útiles, como cabezas de series en el diseño de nuevos medicamentos en contra de estas tripanosomiasis. El trabajo fue coordinado entre más de 12 laboratorios universitarios distribuidos en las Facultades de Química, Medicina, Farmacia y Biología, un laboratorio central de análisis de los compuestos sintetizados, y más de 100 personas interactuando para diseñar y probar compuestos en contra de 11 agentes patógenos, entre ellos compuestos tripanocidas.

Nuestra orientación ha sido básicamente reconocer que los compuestos que son potentes en el laboratorio, no necesariamente son los mejores medicamentos en el mercado. Por ello hemos ahondado esfuerzos con el objetivo de describir herramientas fundamentales para refinar la selección de candidatos potencialmente aptos para entrar en estudios preclínicos. Así, inicialmente, se evaluaron miles de moléculas de diferentes clases estructurales, sintetizadas en el marco de nuestra plataforma, para determinar sus actividades tripanocidas, su citotoxicidad contra células de mamíferos y su índice de selectividad. Posteriormente se seleccionaron 185 de ellas y se determinó la correlación entre su eficiencia de ligazón y sus propiedades químicas estructurales (23). Seguidamente, escogimos 7 compuestos, los más promisorios, y evaluamos, por una parte los cambios morfológicos producidos por estos compuestos a nivel ultraestructural en el parásito, así como la correlación de estos cambios con sus propiedades químicas, a fin de orientar la investigación hacia cuales organelos celulares podrían constituir los blancos de estos compuestos (23).

El PSA (Polar Surface Area o área de superficie polar) de una molécula puede ser definido

como la suma de la superficie molecular de los átomos polares, principalmente oxígeno y nitrógeno, también incluyendo sus hidrógenos unidos ⁽²⁴⁾. El PSA es una herramienta de uso común en la química medicinal, útil en la optimización de la capacidad de un fármaco para penetrar las células, y también en la predicción de las propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME) de las moléculas ^(25, 26, 27, 28). De hecho, está claramente definido que las moléculas con PSA superior a 140 Å² tienden a ser poco transportadas a través de las membranas celulares ⁽²⁸⁾.

En un esfuerzo por aumentar la validez de nuestro análisis previo ⁽²³⁾, y con el fin de obtener información adicional sobre las características ADME de los compuestos, determinamos la correlación entre la actividad tripanocida de los compuestos seleccionados [IC₅₀] (listados en la tabla 2) y su PSA predicho. Este es un ejemplo de las herramientas utilizadas para la comprensión de la relación entre la potencia de un compuesto y sus características químicas en el marco del proyecto multicéntrico.

Tabla 2. Actividad tripanocida, citotoxicidad e IS de compuestos seleccionados.

¹Derivados tipo amino ácido del ácido fumárico y de piperazina.² Bisnaphthalimidabisquaternarias. ³ Derivados de piperidine. ⁴ Sales de *N*-Arylpyridinium. Modificado de ⁽²³⁾.

Compuesto	IC ₅₀ <i>T. brucei</i> (nM)	IC ₅₀ J774.1 (nM)	Índice de selectividad (IS)
2	5.3	38 600	7 283
4 ¹	510	18 000	35
15 ¹	700	54 000	77
37 ²	500	>100 000	> 200
68 ³	2 710	>100 000	> 35
69 ³	450	43 000	96
77 ⁴	350	>100 000	> 285
88 ⁴	4.5	27 300	6 067

La Figura 1 ilustra la correlación sigmoideal existente. De hecho, puede observarse que los compuestos con valores de IC₅₀ en el rango nM (bajos) [sales de *N*-Arylpyridinium, 77 y 88] presentan valores de PSA muy pequeños, mientras que los compuestos con IC₅₀ en el rango alto nM y mM [bisnaphthalimidabisquaternarias 37, y derivados de piperidina, 68 y 69] tienen valores de PSA que son, en algunos casos, incluso superiores a 140 Å². Este dato sugiere su dificultad de atravesar las membranas celulares.

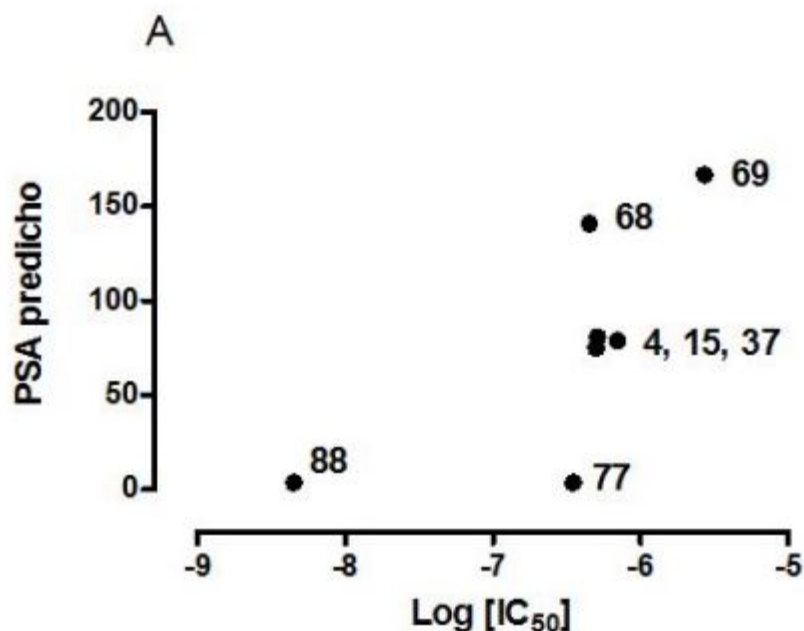


Figura 1. Correlación entre PSA y log IC₅₀ de los compuestos seleccionados.

Resultados anteriores obtenidos en el desarrollo de nuestro proyecto indican que [37 y 68] son promiscuos en el sentido de que tienen afinidad por más de un organelo; i.e., el retículo endoplasmico y el kinetoplasto ⁽²³⁾. El estrés en el retículo endoplásmico se ha definido como indicativo de toxicidad inducida por el compuesto utilizado; esto ocurre con más frecuencia en drogas que son lipofílicas, tienen más de un blanco terapéutico, y presentan una permeabilidad pasiva significativa ⁽²⁹⁾; este pudiera ser el caso para los compuestos [37, 68] con PSA en el extremo superior del rango, tal y como ya fue descrito. Los compuestos [77 y 88], presentan afinidad por los organelos mencionados y también por el bolsillo flagelar. Como se definió anteriormente, el estrés sobre el retículo endoplásmico puede ser un reflejo de toxicidad. Es de hacer notar que [77 y 88] comparten propiedades fisicoquímicas importantes con el Mitotracker Red®, compuesto diseñado para marcar fluorescentemente la mitocondria ⁽³⁰⁾. Sin embargo, su orientación hacia este organelo del parásito pudiera estar guiada por propiedades como la diferencia de carga, negativa dentro del kinetoplasto, y su bajo PSA, el cual le otorga propiedades de alta permeabilidad a través de las membranas ⁽³¹⁾. Finalmente, las moléculas con un PSA intermedio [derivados de los amino ácidos del ácido fumárico y de la piperazina, [4, 15] parecen dirigirse específicamente a espacios ácidos tipo lisosomas⁽²³⁾. Estos compuestos, especialmente [15], comparten las propiedades de carga y D de carga con el Lisotracker Red®, un marcador fluorescente cuyo blanco intracelular son los lisosomas ⁽³²⁾. También el PSA de ambos compuestos se encuentra en el mismo rango del evidenciado para Lisotracker Red®. Estos datos parecen apoyar la idea de que el blanco celular de estos compuestos [4 y 15] sean los compartimientos ácidos tipo lisosoma.

Todo esto indica que la correlación que existe entre PSA y la actividad de miembros seleccionados de cada clase de compuesto sobre el parásito *T. brucei*, forman parte de una prueba de concepto de diseño de medicamentos y sus características para ser transportados a

través de las diferentes membrana celulares.

Conclusión

La comprensión de las propiedades ADME de un compuesto, entre ellas las relativas a la permeabilidad en la membrana, así como las que definen la interacción con las vías metabólicas u organelos intracelulares influyen en la farmacocinética, farmacodinamia y mecanismo (s) de acción de los compuestos. Nuestro proceso de optimización y resultados sugieren que el uso de PSA puede ser de gran ayuda para comprender la correlación entre la actividad y la permeabilidad del compuesto. Estos datos son fundamentales para abordar el reto que significa el incremento del costo del desarrollo de candidatos contra THA.

Agradecimientos

Al Consejo Alemán de Investigación y Desarrollo (DFG), a la Fundación Alejandro de Humboldt, Alemania, al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico-UCV y a la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina-UCV. A mis compañeros alemanes por todo su apoyo durante estos doce años de trabajo conjunto y enriquecedor.

REFERENCIAS

1. Steverding D. The history of African trypanosomiasis. *Parasites & Vectors* 2008; 1:3.doi: 10.1186/1756-3305-1-3.
2. WHO. Trypanosomiasis, Human African (sleeping sickness) 2012. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/en/>. [Última consulta: 14 deFebrero 2015].
3. Franco JR, Simarro PP, Diarra A, Jannin JG. Epidemiology of human African trypanosomiasis. *Clin Epidemiol*. 2014;6:257-275.
4. Desquesnes M, Dargantes A, Lai DH, Lun ZR, Holzmuller P, Jittapalapong S. *Trypanosoma evansi* and surra: a review and perspectives on transmission, epidemiology and control, impact, and zoonotic aspects. *Biomed Res Int*. 2013;2013:321237.doi: 10.1155/2013/321237
5. García F, Rivera M, Ortega M, Suárez C, Trypanosomiasis equina causada por *Trypanosoma evansi* en tres hatos ganaderos del Estado Apure, Venezuela. *Rev Fac Cs Vet. UCV* 2000;41: 91.
6. Centro para la seguridad alimentaria y salud pública Universidad del Estado de IOWA [Artículo en línea]. Disponible: http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/_disease.php?name=surra&lang=en [Última consulta: 15 de febrero de 2015].
7. Ministerio de Agricultura y Abastecimiento del Brasil, Libro: *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* Biologia, Diagnóstico e Controle [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015.pdf> [Última consulta: 15 de febrero de 2015].
8. Base de datos del Sistema mundial de información zoonitaria (WAHID), Organización

Mundial de Sanidad Animal (OIE) [Artículo en línea]. Disponible: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap/index/newlang/es [Última consulta: 15 de febrero de 2015].

9. Desquesnes, M. L. trypanosomoses and their vectors in Latin America. World Organization for Animal Health (OIE). World animal health information database (WAHID) [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.oie.int/doc/ged/D9818.PDF> . [Última consulta: 21 febrero 2014].

10. Stich A, Ponte-Sucre A, Holzgrabe U. Do we need new drugs against human African trypanosomiasis? *Lancet Infect Dis* 2013;13:733-734.

11. The cattle site [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.thecattlesite.com/diseaseinfo/249/trypanosomosis-sleeping-disease-nagana#sthash.O3h6mrXl.dpuf>. [Última consulta: 10 febrero 2015].

12. Surra [Artículo en línea]. Disponible: <http://osp.mans.edu.eg/elsawalhy/Inf-Dis/surra.htm> [Última consulta: 10 febrero 2015].

13. Torreele E, Bourdin Trunz B, Tweats D, Kaiser M, Brun R, Mazué G, Bray MA, Pécoul B. Fexinidazole--a new oral nitroimidazole drug candidate entering clinical development for the treatment of sleeping sickness. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e923. doi: 10.1371/journal.pntd.0000923.

14. Kaiser M, Bray MA, Cal M, Bourdin Trunz B, Torreele E, Brun R. Antitrypanosomal activity of fexinidazole, a new oral nitroimidazole drug candidate for treatment of sleeping sickness. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 5602-5608.

15. Jacobs RT, Nare B, Wring SA, Orr MD, Chen D, Sligar JM, Jenks MX, Noe RA, Bowling TS, Mercer LT, Rewerts C, Gaukel E, Owens J, Parham R, Randolph R, Beaudet B, Bacchi CJ, Yarlett N, Plattner JJ, Freund Y, Ding C, Akama T, Zhang YK, Brun R, Kaiser M, Scandale I, Don R. SCYX-7158, an orally-active benzoxaborole for the treatment of stage 2 human African trypanosomiasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e1151. doi: 10.1371/journal.pntd.0001151.

16. Mäser P1, Wittlin S, Rottmann M, Wenzler T, Kaiser M, Brun R. Antiparasitic agents: new drugs on the horizon. *Curr Opin Pharmacol*. 2012; 12:562-566.

17. Rodgers J, Jones A, Gibaud S, Bradley B, McCabe C, Barrett MP, Gettinby G, Kennedy PG. Melarsoprol cyclodextrin inclusion complexes as promising oral candidates for the treatment of human African trypanosomiasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e1308. doi: 10.1371/journal.pntd.0001308.

18. Kennedy PG. An alternative form of melarsoprol in sleeping sickness. *Trends Parasitol* 2012; 28: 307-310.

19. Simarro PP, Diarra A, Ruiz Postigo JA, Franco JR, Jannin JC. The human African trypanosomiasis control and surveillance programme of the World Health Organization 2000-2009: the way forward. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(2):e1007. doi: 10.1371/journal.pntd.0001007.

20. Simarro PP1, Franco J, Diarra A, Postigo JA, Jannin J. Update on field use of the available drugs for the chemotherapy of human African trypanosomiasis. *Parasitology* 2012; 139: 842-846.
21. Simarro PP, Cecchi G, Franco JR, Paone M, Fèvre EM, Diarra A, Postigo JA, Mattioli RC, Jannin JG. Risk for human African trypanosomiasis, Central Africa, 2000-2009. [Emerg Infect Dis](#) 2011; 17:2322-2324.
22. Ruiz-Postigo JA1, Franco JR, Lado M, Simarro PP. Human African trypanosomiasis in South Sudan: how can we prevent a new epidemic? *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6: e1541. doi: 10.1371/journal.pntd.0001541.
23. Ponte-Sucre A, Bruhn H, Schirmeister T, Cecil A, Albert CR, Buechold C, Tischer M, Schlesinger S, Goebel T, Fuß A, Mathein D, Merget B, Sotriffer CA, Stich A, Krohne G, Engstler M, Bringmann G, Holzgrabe U. Anti-trypanosomal activities and structural chemical properties of selected compound classes. *Parasitol Res.* 2015;114:501-512.
24. Hou T, Wang J, Zhang W, Xu X. ADME evaluation in drug discovery. Can oral bioavailability in humans be effectively predicted by simple molecular property-based rules? *J ChemInf Model* 2007; 47:460-463.
25. Pajouhesh H, Lenz GR. *Neuro Rx: Medicinal Chemical Properties of Successful Central Nervous System Drugs.* J. Amer. Soc. Exper. Neuro Therapeutics 2005; 2:541-553.
26. Palm K, Stenberg P, Luthman K, Artursson P. Polar molecular surface properties predict the intestinal absorption of drugs in humans. *Pharm. Res* 1997;14:568-571.
27. Egan WJ, Merz KM Jr, Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J Med Chem* 2000; 43:3867-3877.
28. Ertl P, Rohde B, Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J Med Chem* 2000; 43:3714-3717.
29. Koslov-Davino E1, Wang X, Schroeter T. Target promiscuity and physicochemical properties contribute to pharmacologically induced ER-stress. *Toxicol In Vitro* 2013;27:204-210.
30. Okabe K1, Inada N, Gota C, Harada Y, Funatsu T, Uchiyama S. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nat Commun* 2012; 3:705. doi: 10.1038/ncomms1714
31. Scott ID, Nicholls DG. Energy transduction in intact synaptosomes. Influence of plasma-membrane depolarization on the respiration and membrane potential of internal mitochondria determined in situ. *Biochem J* 1980; 186:21-33.
32. De Duve C, De Barse T, Poole B, Trouet A, Tulkens P, Van Hoof F. Lysosomotropic agents. *Biochem Pharmacol* 1974;24:2495-2531.

