BÚSQUEDA DE AGENTES ANTI-*T. CRUZI* UTILIZANDO ESTRATEGIAS DE REPOSICIONAMIENTO Y POLIFARMACOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA URUGUAY

FACULTAD DE CIENCIAS UDELAR fcien.edu.uy

JORNADAS RIOPLATENSES DE Química Medicinal

Claudia Veira[1], Elena Aguilera[1], **Hugo Cerecetto [1,2]**

1-Grupo de Química Orgánica Medicinal, Instituto de Química Biológica; 2- Área de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares; Facultad de Ciencias, Universidad de la República,Montevideo, 11400, Uruguay.

GRUPO QUIMICA ORGANICA MEDICINAL

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, cuyo agente etiológico es el protozoario *Trypanosoma cruzi*, sigue siendo una enfermedad desatendida luego de 100 años de su primer descripción. Las herramientas terapéuticas, que son limitadas, se basan en pequeños fármacos de considerables efectos secundarios y cuestionada efectividad y sin vacunas preventivas hasta el momento. Herramientas como el reposicionamiento de fármacos o el uso de la polifarmacología en la enfermedad de Chagas han sido poco exploradas o exploradas de forma particular. Por ejemplo, en el reposicionamiento se ha trabajado con números limitados de fármacos y especialmente orientado a un cribado genotípico.[1],[2] Por otro lado, la polifarmacología es aún una incipiente herramienta en la búsqueda de soluciones terapéuticas para la EC.[3]-[5]

OBJETIVOS

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, los objetivos son:

i) identificar principios activos de medicamentos disponibles en nuestro país con potencial uso como agentes antichagásicos;

ii) estudiar combinaciones de estos principios activos buscando sinergismo o aditividad en su acción anti-*T. cruzi*.

METODOLOGÍA

1 **Entidades estudiadas:** Se seleccionaron 102 medicamentos de venta libre en Uruguay prescriptos para diferentes patalogías (no necesariamente acciodas a enfermedad de Chagas). El principio activo, salvo excepciones, fue separado de los excipientes por extracción con un disolvente adecuado, purificado y la calidad del mismo fue evidenciada por cromatografía y espectroscopía. Se incluyeron como agentes de referencia benznidazol (bnz), ketoconazol y terbinafine.

2 **Cribado fenotípico sobre el parásito:** En primera instancia de estudia el porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro* de la forma epimastigote de la cepa Tulahuen 2 de *T. cruzi* a 25 µM. Si la inhibición es mayor a 50 %, respecto a los parásitos no tratados, se determina la CI_{50}.

3 **Estudios isobológráficos:** Con los medicamentos que mostraron actividades destacables anti-*T. cruzi* se realizaron estudios isobológráficos de combinaciones binarias. Caracterizando las combinaciones como antagonistas, sinérgicas y aditivas.

4 **Estudios de citotoxicidad sobre células mamíferas:** Como forma de conocer la selectividad se estudiaron las citotoxicidades, en macrófagos murinos J774.1, de los medicamentos independientes o de las combinaciones binarias más prometedoras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1 **Reposicionamiento:**

1.1. Un 10 % de los medicamentos estudiados fueron activos en el ensayo fenotípico, siendo cerca de un 3 % más activos y cerca de un 6 % de similares actividades que los agentes de referencia (**Tabla 1**).

1.2. El medicamento que resultó más activo frente a *T. cruzi*, **naftazona** ([(*E*)-(1-oxonaftalen-2-iliden)amino]urea), fue 7 veces más efectivo que bnz (**Tabla 1**).

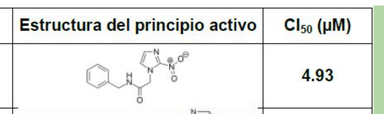
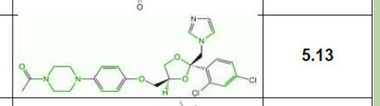
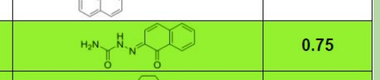
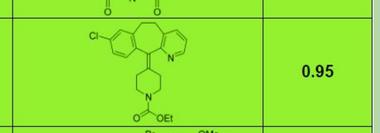
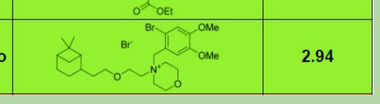
2 **Polifarmacología:**

2.1. Se encontraron, hasta el momento, veintiuna combinaciones binarias antagónicas, 3 sinérgicas y 6 aditivas (**Tabla 2**).

2.2. En 3 combinaciones participa **naftazona** (**Tabla 2**).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN (*continuación*)

Tabla 1. Principios activos que han mostrado actividad tripanosomicida (ordenados según actividad decreciente, excepto para los tres primeros, compuestos descritos previamente con actividad anti-*T. cruzi*)

Compuesto	Estructura del principio activo	CI_{50} (µM)
bnz		4.93
Ketoconazol		5.13
Terbinafine		21.35
Naftazona		0.75
Loratadina		0.95
Bromuro de pinaverio		2.94

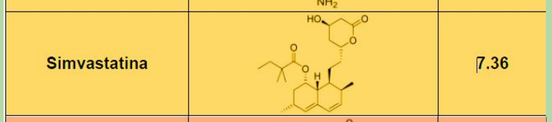
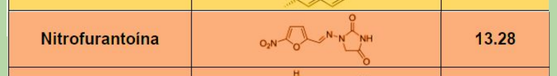
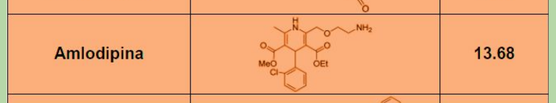
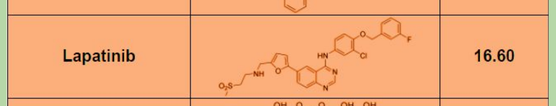
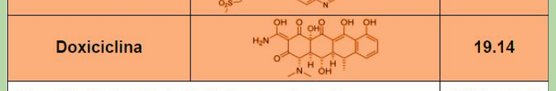
Compuesto	Estructura del principio activo	CI_{50} (µM)
Gabapentina		6.01
Simvastatina		7.36
Nitrofurantoína		13.28
Amlodipina		13.68
Lapatinib		16.60
Doxiciclina		19.14
Climodín (extracto de *Trifolium pratense*)		22.7 (µg/mL)

Tabla 2. Resumen del efecto (sinérgico, aditivo o antagónico) de las combinaciones binarias estudiadas *in vitro* frente a *T. cruzi*

	Benznidazol	Ketoconazol	Terbinafine	Naftazona	Loratadina	Pinaverio	Gabapentina	Simvastatina	Nitrofurantoina	Amlodipina	Lapatinib	Doxiciclina	Climodin
Benznidazol													
Ketoconazol													
Terbinafine													
Naftazona													
Loratadina													
Pinaverio													
Gabapentina													
Simvastatina													
Nitrofurantoina													
Amlodipina													
Lapatinib													
Doxiciclina													
Climodin													

	SINERGISMO
	ADITIVIDAD
	ANTAGONISMO

Citotoxicidad frente a macrófagos murinos:

3.1. Frente a macrófagos **naftazona** resultó ser la menos citotóxico, presentando un índice de selectividad 3 veces superior al de bnz (**Tabla 3**).

3.2. Adicionalmente, la combinación binaria aditiva de **naftazona** y **gabapentina** no mostró efecto aditivo de la citotoxicidad frente a macrófagos (**Tabla 3**).

Combinaciones binarias	
Ketoconazol	Nitrofurantoina
4.9 µM	
Naftazona	Climodín
6.89 µg/mL	
Naftazona	Gabapentina
101.65 µM	
Climodín	Lapatinib
8.99 µg/mL	

COMPUESTO	CI_{50} J477.1 (µM)	IS
Benznidazol	247.3	50.2
Ketoconazol	13.3	2.60
Terbinafine	65.0	3.05
Naftazona	98.2	130.1
Nitrofurantoína	61.1	4.59
Gabapentina	19.1	3.13
Pinaverio	8.6	2.92
Doxiciclina	23.8	1.24
Simvastatina	6.5	0.88
Climodín	18.1 µg/mL	0.8
Lapatinib	7.6	0.5

Tabla 3. Derecha: Resultados de CI_{50} frente a macrófagos y del índice de selectividad IS (ordenados según selectividad decreciente, excepto para los tres primeros, compuestos estudiados previamente). **Izquierda:** Resultados de CI_{50} frente a macrófagos para algunas combinaciones binarias estudiadas hasta el momento.

COMENTARIOS

1 De los principios activos, de medicamentos con otras indicaciones, que fueron efectivos frente a *T. cruzi* se observaron elementos mecanísticos en común, así **bromuro de pinaverio**, **gabapentina** y **amlodipina** están involucrados en la bioquímica del calcio en células mamíferas, a saber: inhibición del flujo de calcio en células del músculo liso intestinal, acción sobre los canales iónicos de calcio modificando su homeostasis, bloqueo de los canales de calcio, respectivamente.
Este aspecto debe ser considerado a futuro para elucidar el efecto de estos compuestos sobre *T. cruzi*.

2 Las combinaciones binarias aditivas y sinérgicas pueden garantizar un prometedor uso terapéutico por mostrar en sus componentes diferentes mecanismos de acción, a saber: efecto sobre la biosíntesis de esteroles de membrana (**ketoconazol**, **terbinafine**), inhibición de síntesis proteica (**nitrofurantoína**), bloqueo de receptores H1 de histamina (**loratadina**), estabilización de la membrana lisosomal (**naftazona**), inhibición de receptores de tirosinquinsa (**lapatinib**) y acción sobre receptores estrogénicos (**climodín**).

BIBLIOGRAFÍA

[1] Juarez-Saldivar, A.; Gómez-Escobedo, R.; Corral-Ruiz, G.; Chacón-Vargas, K.F.; Horta-Montaño, V.; Sanchez-Torres, L.; Vazquez-Jimenez, L.K.; Nogueda-Torres, B.; Rivera, G. *Arch. Med. Res.*, **2024**, 55, 102958.

[2] Spósito, P.Á.; Mazzeti, A.L.; de Castro, K.C.M.P.; Mendes, P.F.; Urbina, J.A.; Bahia, M.T.; Mosqueira, V.C.F. *Exp. Parasitol.*, **2021**, 228, 108142.

[3] Aguilera, E.; Sánchez, C.; Cruces, M.E.; Dávila, B.; Minini, L.; Mosquillo, F.; Pérez-Díaz, L.; Serna, E.; Torres, S.; Schini, A.; Sanabria, L.; Vera de Bilbao, N.I.; Yaluff, G.; Zolessi, F.R.; Ceilas, L.F.; Cerecetto, H.; Alvarez, G. *Pharmaceuticals*, **2022**, 16, 20.

[4] Aguilera, E.; Alvarez, G.; Cerecetto, H.; González, M. *Curr. Med. Chem.*, **2019**, 26, 4476-4489.

[5] Aguilera, E.; Varela, J.; Serna, E.; Torres, S.; Yaluff, G.; Bilbao, N.V.; Cerecetto, H.; Alvarez, G.; González, M. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, **2018**, 113, 153-160.