

## **Nuevos derivados de la tetrahydro-1-benzoazepina con actividad antiparasitaria en *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania chagasi***

Patricia Escobar<sup>1</sup>, Sandra Milena Leal<sup>1</sup>, Carlos Andrés Coronado<sup>1</sup>, Sandra Liliana Gómez<sup>2</sup>, Alirio Palma<sup>2</sup>

### **INTRODUCCIÓN**

La leishmaniasis y la enfermedad de Chagas constituyen un problema grave de salud pública, con altos índices de morbilidad y mortalidad en áreas rurales de América Latina. El panorama de tratamiento es desfavorable, con pocas alternativas de elección, protocolos largos y de dispendiosa aplicación, presentándose algunas veces efectos colaterales, efectividad variable y resistencia. Los derivados de la tetrahydro-1-benzoazepina han sido estudiados farmacológicamente, especialmente su acción sobre el sistema nervioso central<sup>1,2</sup>, pero muy poco se sabe acerca de su actividad antiparasitaria. Zuccotto y colaboradores reportaron un estudio sobre derivados de la 1-benzoazepina como inhibidores selectivos de la enzima dihidrofolato reductasa del *Trypanosoma cruzi*, y resaltaron un compuesto con una actividad de 54  $\mu\text{M}$  en epimastigotes de *T. cruzi*<sup>3</sup>.

En este estudio se evaluó la actividad de once (11) derivados de la tetrahydro-1-benzoazepina contra las formas libres e intracelulares de los parásitos y su toxicidad en células de mamífero. *Salud UIS* 2008; 40: 134-136

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Síntesis**

La síntesis de los compuestos ensayados se realizó a través de la secuencia de transformaciones químicas que se ilustra en la Figura 1. Esta secuencia de reacciones representa una ruta alterna propia, diseñada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica, para realizar la síntesis estereoselectiva de los nuevos derivados de la 1,4-epoxi-2-ariltetrahydro-1-benzoazepina 3a-f y *cis*-2-aril-4-hidroxitetrahydro-1-benzoazepina 4a-f<sup>4</sup>.

#### **Compuestos**

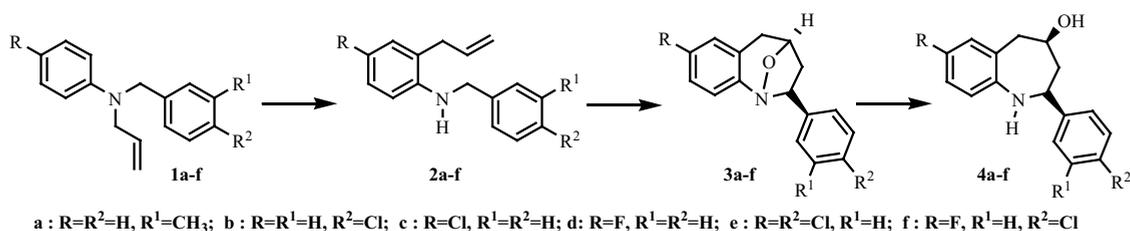
Los derivados 3b-f y 4a-f fueron las nuevas sustancias que se evaluaron, el nifurtimox y la anfotericina B se usaron como medicamento de referencia. Se prepararon soluciones stock de los compuestos en dimetilsulfóxido (100X) y las soluciones de trabajo fueron preparadas en medio de cultivo antes de iniciar las evaluaciones biológicas.

---

1. Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP), Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

2. Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO), Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

**Correspondencia:** Patricia Escobar. Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP), Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. E-mail: [pescobar@uis.edu.co](mailto:pescobar@uis.edu.co).



**Figura 1.** Secuencia de transformaciones químicas

## Parásitos y células

*Leishmania chagasi* (MHOM/BR/74/PP75) fue mantenida en medio RPMI 1640 suplementado con 10% de suero bovino fetal inactivo (SBFi) y hemina. *T. cruzi* (cepa 320I01) fue cultivada en triptosa infusión de hígado (LIT) 10% SBFi a 28°C. Células Vero (ATCC) y THP-1 (ATCC) se cultivaron en medio RPMI 1640 con 3 y 10% de SBFi a 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 95% mezcla-aire, respectivamente.

## Ensayos Biológicos

### Formas extracelulares

Las formas de epimastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de *L. chagasi* (5 x 10<sup>5</sup> parásitos/mL) en placas de 96 pozos fueron tratadas con diluciones seriadas 1:3 de los compuestos y los medicamentos de referencia (0-100 µg/mL) por triplicado. Los parásitos fueron contados en cámara de Neubauer después de 72 h de incubación.

### Formas intracelulares

En *T. cruzi*, células VERO en placas de 16 pozos fueron infectadas con tripomastigotes en un radio 1:10 célula: parásito por 24 h. Las células infectadas fueron tratadas con o sin los compuestos (0-33 µg/mL) durante 5 días a 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 95% mezcla-aire. Para *L. chagasi*, células THP-1 transformadas con forbol miristato acetato (PMA) fueron infectadas con promastigotes en fase estacionaria a un radio 1:10 célula: parásito por 48 h. Las células infectadas fueron tratadas con o sin los compuestos (0-33 µg/mL) durante 5 días. Las placas fueron fijadas con metanol y coloreadas con Giemsa para determinar el total de células infectadas en el microscopio de luz.

## Citotoxicidad

Las células VERO y células THP-1 transformadas con PMA fueron colocadas en cajas de 96 pozos y tratadas con los compuestos (0-100 µg/mL) durante 72 h a 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 95% mezcla-aire. La viabilidad celular se determinó mediante un método colorimétrico, empleando la sal de tetrazolio 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio

bromuro (MTT). El % de citotoxicidad fue calculado con la siguiente fórmula (OD grupo control- OD grupo tratado)/ OD grupo control\*100.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

La actividad anti-*Leishmania* y anti-*T. cruzi* fue expresada en concentraciones inhibitorias 50 (CI<sub>50</sub>) y CI<sub>90</sub>. La actividad en células de mamífero fue expresada en concentración citotóxica 50 (CC<sub>50</sub>) y CC<sub>90</sub>. Los datos fueron calculados utilizando el software (Mxsoft™; ID Business Solution, Guildford, UK). El índice de selectividad (IS) se calculó dividiendo CI<sub>50</sub>/CI<sub>50</sub>.

## RESULTADOS

En *T. cruzi*, todos los compuestos ensayados fueron activos en epimastigotes con rangos de actividad de CI<sub>50</sub> entre 3,7 y 12,64 µg/mL y CI<sub>90</sub> entre 7,42 y 59,06 µg/mL. En amastigotes intracelulares de *T. cruzi*, los compuestos 3b y 3f mostraron actividad con CI<sub>50</sub> <11,1 µg/mL y CI<sub>90</sub> de 15,06 y 18,12 µg/mL, respectivamente. Los dos compuestos no fueron tóxicos en células Vero y THP-1.

En *Leishmania*, nueve compuestos fueron activos en promastigotes con CI<sub>50</sub> entre 4,29-40,64 µg/mL y CI<sub>90</sub> 11,69-80,18 µg/mL y con IS mayor de 2,5. Ninguno de los compuestos ensayados presentó actividad en amastigotes intracelulares de *L. chagasi*.

En células de mamífero, los compuestos 4c, 4e y 4f fueron tóxicos en células Vero con actividad de CC<sub>50</sub> entre 9,91 y 20,32 µg/mL y CC<sub>90</sub> >100 µg/mL. En células THP-1, cuatro compuestos fueron tóxicos con actividad de CC<sub>50</sub> entre 23,71 y 44,65 µg/mL y CC<sub>90</sub> entre 64,69 y >100 µg/mL.

## CONCLUSIONES

En este trabajo demostramos la actividad de nuevos derivados de la tetrahidro-1-benzoazepina contra

parásitos como *T. cruzi* y *Leishmania*, con dos compuestos activos contra las formas intracelulares de *T. cruzi* y que no presentaron toxicidad en células Vero. Esto los hacen buenos candidatos para estudios posteriores.

El paso futuro es avanzar en la búsqueda de posibles blancos terapéuticos y mecanismos de acción de estos compuestos en los parásitos.

### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología “Francisco José de Caldas” COLCIENCIAS, convenio Grupo de Excelencia CENIVAM (Código No. 432-2004). También agradecemos a la Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

### REFERENCIAS

1. Kroener S TuY, Abernathy K, Lapish C, Seamans J, Chandler LJ, Woodward JJ. Ethanol inhibits persistent activity in prefrontal cortical neurons. *J. Neuroscience* 2007; Apr 25; 27(17):4765-75.
2. Kung VW, Hassam R, Morton AJ, Jones S. Dopamine-dependent long term potentiation in the dorsal striatum is reduced in the R6/2 mouse model of Huntington’s disease. *Neuroscience* 2007; Jun 8; 146(4):1571-80.
3. Zuccotto F, Zvelebil M, Brun R, Chowdhury SF, Lucrezia RD, Leal I, Maes L, Ruiz-Perez LM, Pacanowska DG, Gilbert IH. Novel inhibitors of *Trypanosoma cruzi* dihydrofolate reductase. *Eur J Med Chem* 2001; 36: 395–405.
4. Gómez Ayala SL, Stashenko E, Palma A, Bahsas A, Amaro-Luis JM. Sequential amino-Claisen Rearrangement / Intramolecular 3+2-Dipolar Cycloaddition / Reductive Cleavage Approach to the Stereoselective Synthesis of cis-4-hydroxy-2-aryl-2,3,4,5-tetrahydro-1(*H*)-benzazepines. *Synlett* 2006; 2275-77.