


CYTED
CENTRO TECNOLÓGICO PARA EL DESARROLLO

**Red temática CYTED
209RT0380**


Potenciales blancos de acción de complejos metálicos en *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas

RED IBEROAMERICANA DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE FÁRMACOS BASADOS EN COMPUESTOS METÁLICOS


Enfermedad de Chagas: *Trypanosomiasis americana*



parásito:
Trypanosoma cruzi



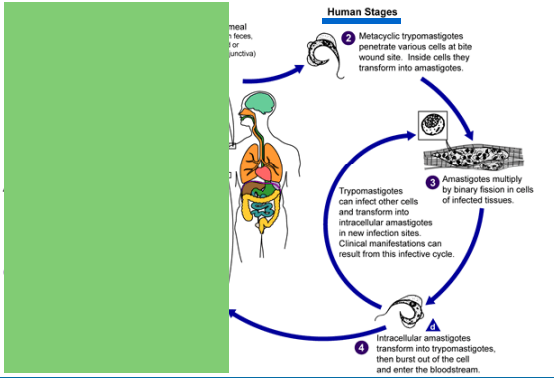
vector: insecto hematófago
Triatoma infestans
Rhodnius prolixus



Enfermedad de Chagas

- 25% de la población latinoamericana está en riesgo
- 20 millones de personas infectadas desde el sur de USA al sur de Argentina y Chile, 2-3 millones en fase crónica, 50.000 muertes por año
- fase crónica que se desarrolla 10-20 años luego de la infección: falla cardíaca crónica, disfunción gastrointestinal crónica, desórdenes neurológicos
- Los pacientes enferman gradualmente y mueren abruptamente de falla cardíaca

Enfermedad de Chagas



Human Stages

1. Insect defecates near the wound site.
2. Metacyclic trypomastigotes penetrate various cells at bite wound site. Inside cells they transform into amastigotes.
3. Amastigotes multiply by binary fission in cells of infected tissues.
4. Intracellular amastigotes transform into trypomastigotes, then burst out of the cell and enter the bloodstream.

Trypomastigotes can infect other cells and transform into intracellular amastigotes in new infection sites. Clinical manifestations can result from this infective cycle.

Enfermedad de Chagas

Nifurtimox
Benznidazol

efectos tóxicos
activos en la fase aguda
desarrollo de resistencia

búsqueda de
nuevas dianas e
I+D de nuevos
fármacos

➔

complejos
metálicos

Agentes metálicos: enfermedad de Chagas

metabolismo reductivo

ADN

biosíntesis de esteroides

otras enzimas

Trypanosoma cruzi

metabolismo de purinas

enzimas glicosomales

proteinasas

ADN topoisomerasas

algunas dianas

Estrategias

Coordinación a
ligandos no activos

Coordinación a
ligandos bioactivos

Coordinación a
ligandos intercalantes
del ADN

Agentes metálicos: enfermedad de Chagas

complejos de Pt

L = NH₃, 4-CH₃-py
R = H, Cl, p-Br-C₆H₄

% inhibición:

- 78% a dosis 1 mM en amastigotas de *T. cruzi*
- 100% a dosis 0,03 mM en tripomastigotas de *T. brucei*

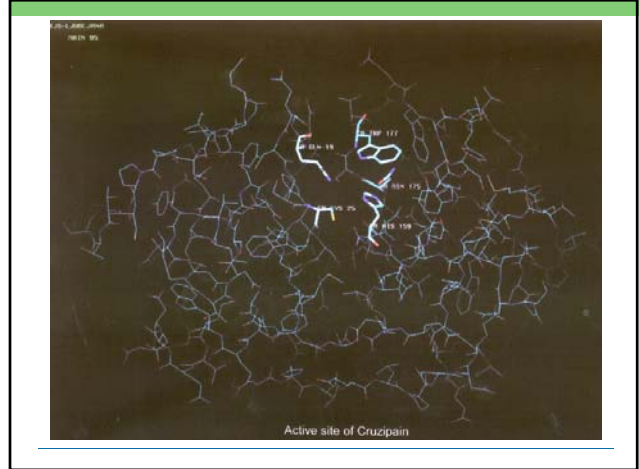
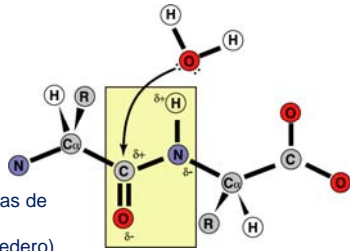
inhibidores irreversibles de la tripanotona reductasa (TR) de *T. cruzi* pero no de la glutatión reductasa (GR) mamífera

Cruzipaina

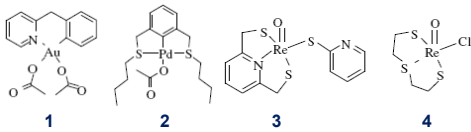
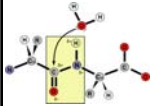


Funciones en el parásito:

Invasión y migración (proteínas de membrana)
 Nutrición (proteínas del hospedero)
 Evasión de la respuesta inmune (degradación de inmunoglobulinas)
 Inmunomodulación



Inhibidores de la cruzaina



Compuesto	Inhibición de la cruzaina (CI ₅₀ μM)
1	0,7
2	0,07
3	0,015
4	0,04

complejo M-L

M = Pd, Pt, Ru, Au, V...

ligando bioactivo

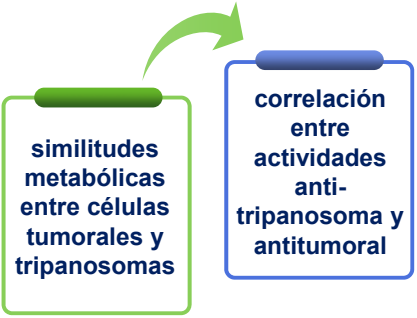
DNA o enzimas parasitarias

blanco propio del ligando

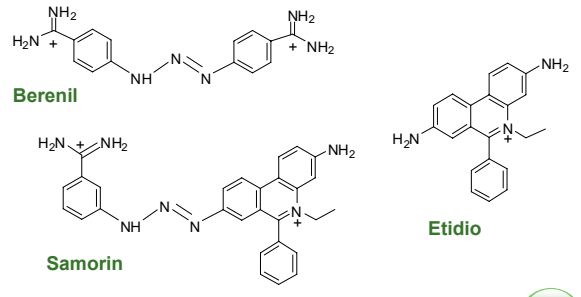
2 farmacóforos en la misma molécula

dos o más blancos de acción

Selección del metal

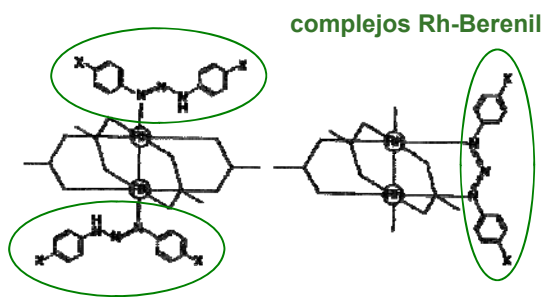


Agentes metálicos: enfermedad de Chagas



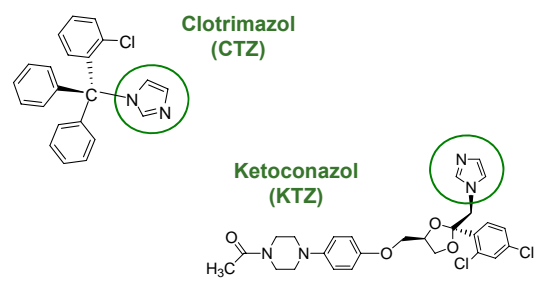
Algunos tripanocidas orgánicos

Agentes metálicos: enfermedad de Chagas

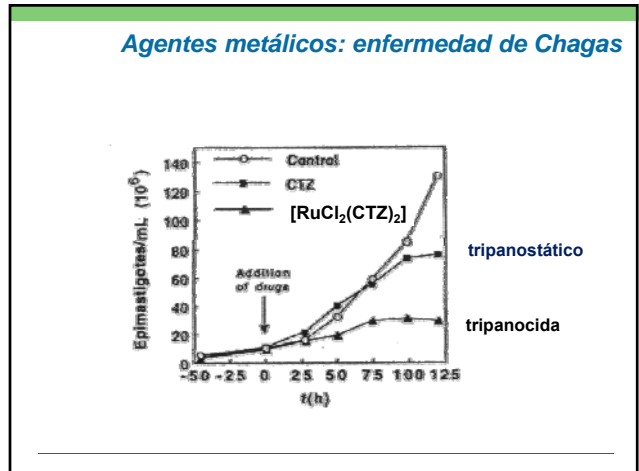
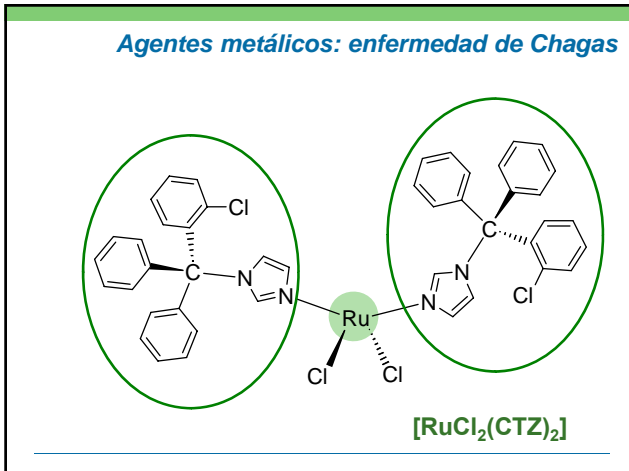
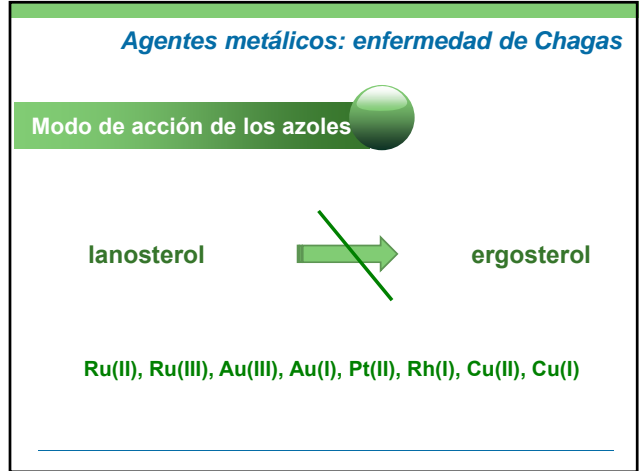
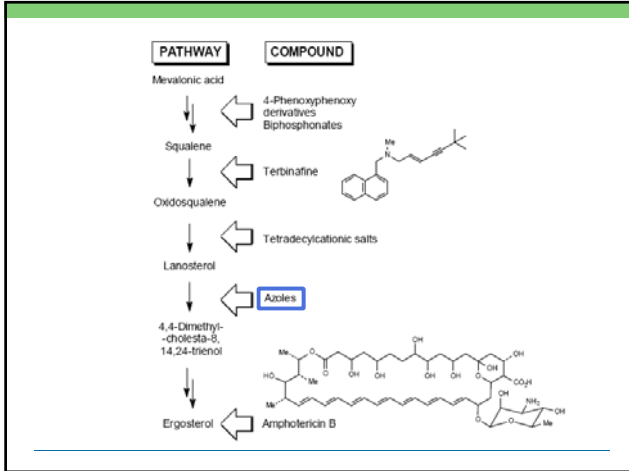


Índice terapéutico mejorado respecto al Berenil

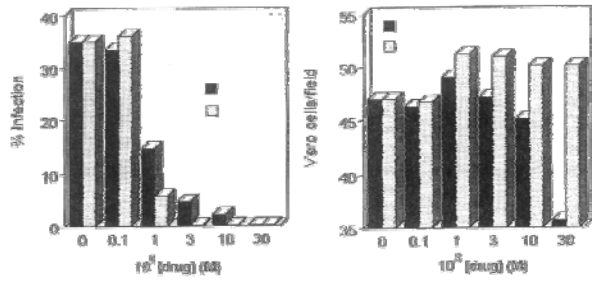
Agentes metálicos: enfermedad de Chagas



Inhibidores de la biosíntesis de esteroides



Agentes metálicos: enfermedad de Chagas



Actividad de [RuCl₂(CTZ)₂] en amastigotas de *T. cruzi* cultivadas en células Vero

Agentes metálicos: enfermedad de Chagas

Hidrólisis en el parásito



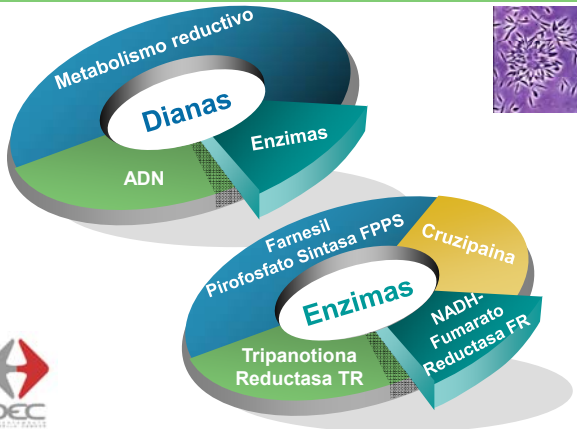
Interacción con ADN:



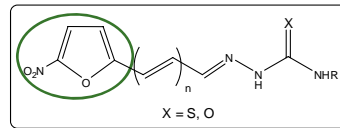
CTZ acción SBI

daño al ADN

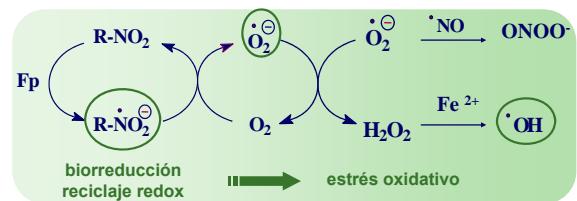
Mecanismo propuesto para [RuCl₂(CTZ)₂]



Metabolismo reductivo

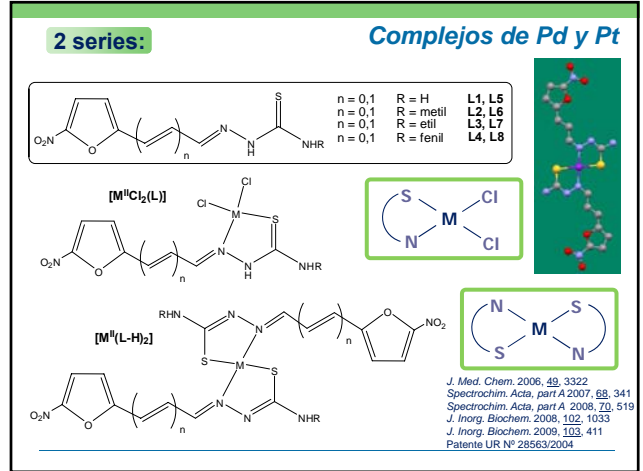
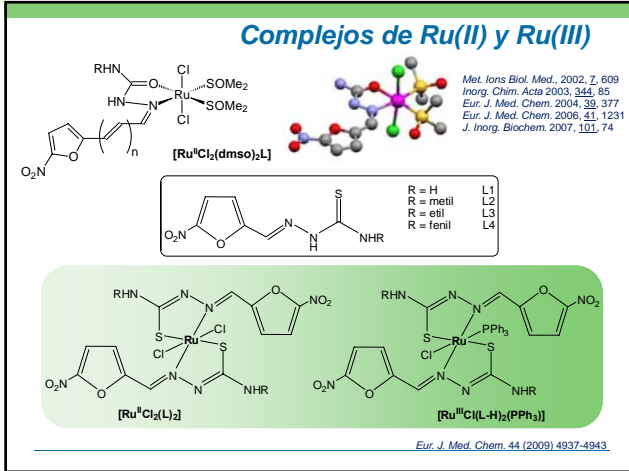


5-nitrofuril semi- y tiosemicarbazonas: estrés oxidativo



Bioorg. Med. Chem. 2004, 12 (18), 4885
Med. Chem. 2008, 4(1), 11

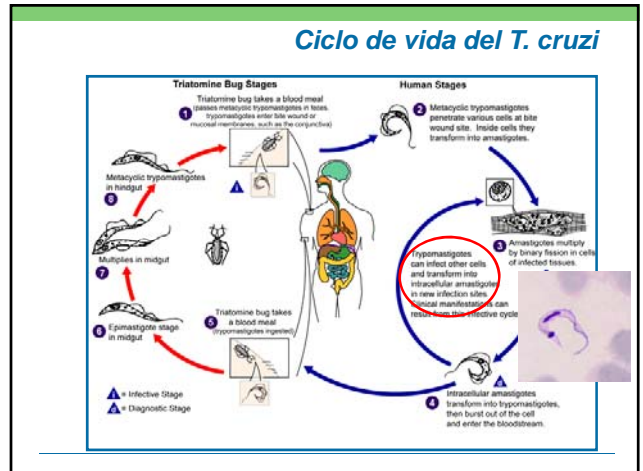
Spectrochim. Acta, part A 2005, 61(13-14), 2933



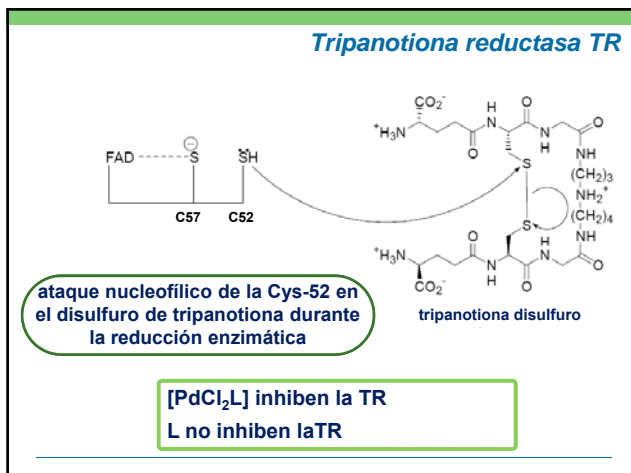
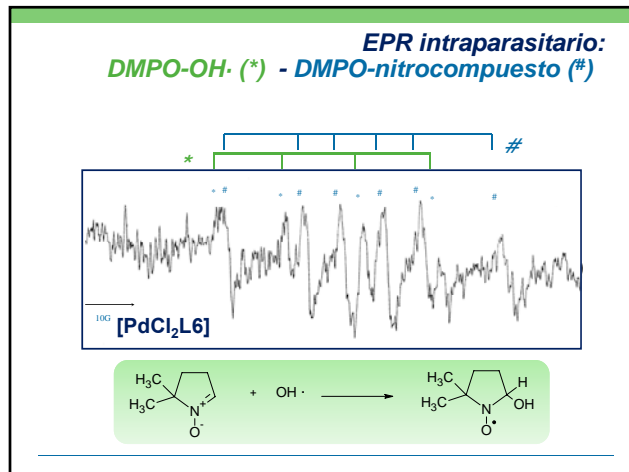
Complejos análogos de Pt y Pd

T. cruzi
(epimastigotas
Tulahuen 2)

	Cl ₅₀ (µM)		Cl ₅₀ (µM)
		L1	2,7
[PtCl ₂ L1]	> 25	[PdCl ₂ L1]	2,4
[Pt(L1) ₂]	> 25	[Pd(L1) ₂]	4,5
		L2	5,0
[PtCl ₂ L2]	13,1	[PdCl ₂ L2]	4,3
[Pt(L2) ₂]	6,9	[Pd(L2) ₂]	4,7
		L3	4,9
[PtCl ₂ L3]	27,5	[PdCl ₂ L3]	5,9
[Pt(L3) ₂]	0,8	[Pd(L3) ₂]	> 25
		L4	> 25
[PtCl ₂ L4]	15	[PdCl ₂ L4]	> 25
[Pt(L4) ₂]	> 25	[Pd(L4) ₂]	> 25
Benznidazol	7,4		
Nifurtimox	6,1		



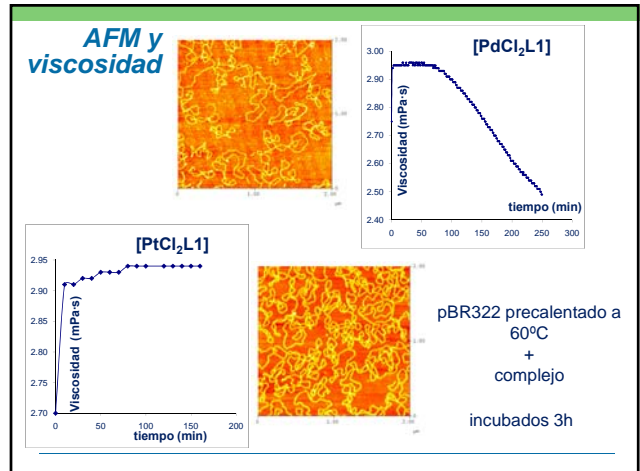
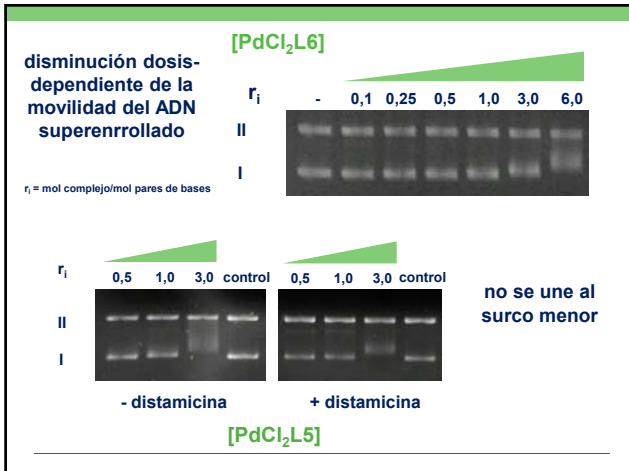
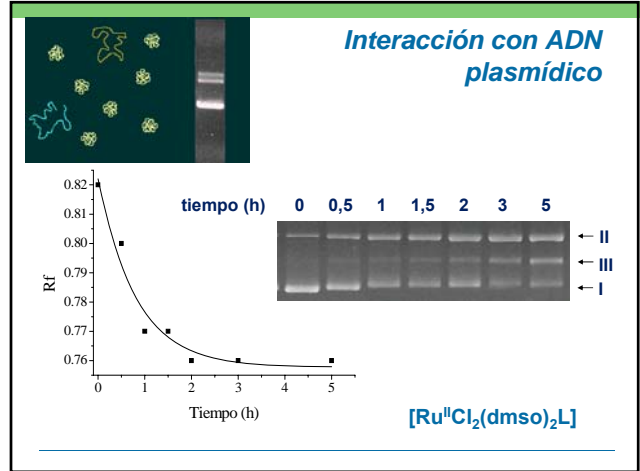
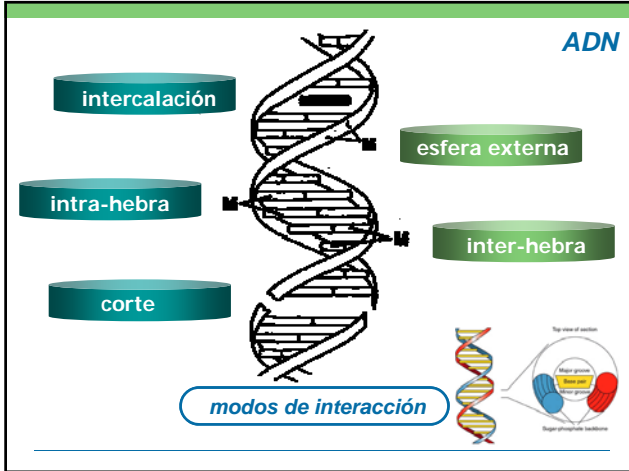
Tripomastigotas de <i>T. cruzi</i> (Dm28c) <small>10⁶⁷ tripomastigotas/mL (Dm28c), incubados 48 h con complejos de Pt a la concentración del Cl₅₀ en epimastigotas Dm28c</small>	Compuesto	Viabilidad respecto al control %
	Nifurtimox 20 μM	68,3
	[PtCl ₂ L2]	45,9
	[PtCl ₂ L4]	37,2
	[PtCl ₂ L5]	58,0
	[PtCl ₂ L6]	25,7
	[PtCl ₂ L7]	20,2
	[PtCl ₂ L8]	34,1
	[Pt(L2) ₂]	37,6
	[Pt(L3) ₂]	51,9
	[Pt(L4) ₂]	64,7
	[Pt(L5) ₂]	28,2
	[Pt(L6) ₂]	53,7
[Pt(L7) ₂]	32,8	
[Pt(L8) ₂]	94,2	

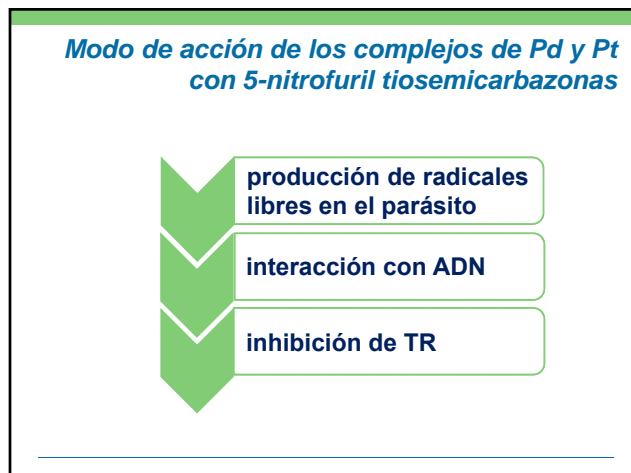
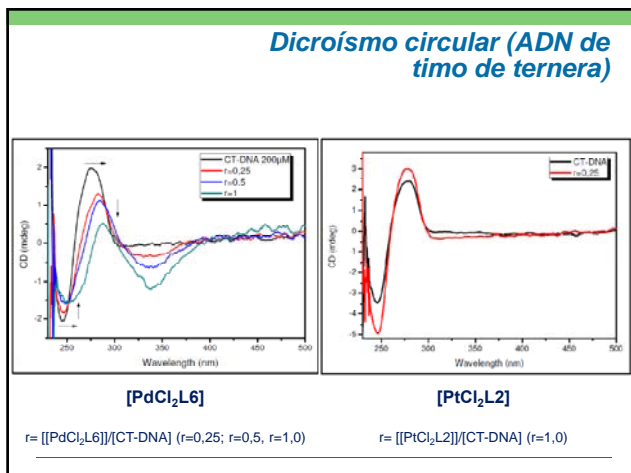
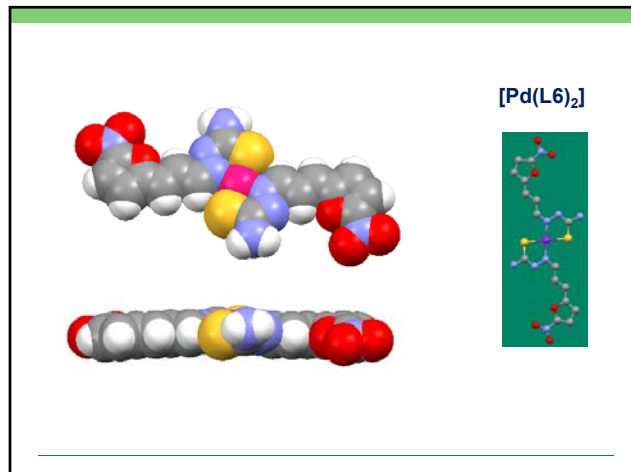
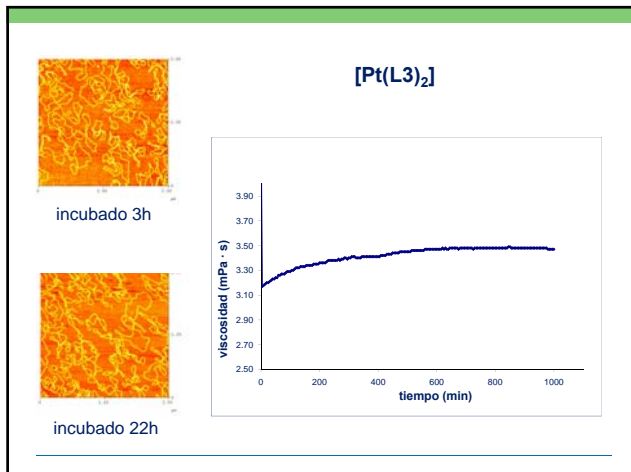


Inhibición de la cruzaina

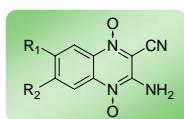
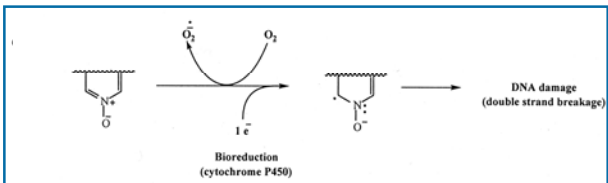
n = 0,1 R = H L1, L5
 n = 0,1 R = metil L2, L6
 n = 0,1 R = etil L3, L7
 n = 0,1 R = fenil L4, L8

Compuesto	Inhibición de la cruzaina (%)	
	50 μM	25 μM
L3	42	23
L6	28	14
[Pd(L6) ₂]	6,4	0
[PdCl ₂ L7]	27	9

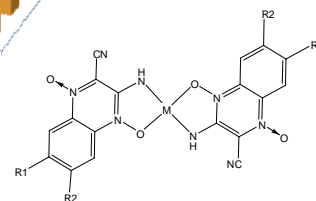
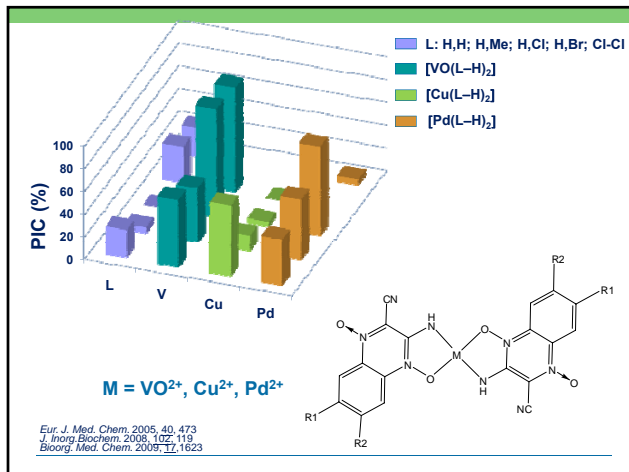




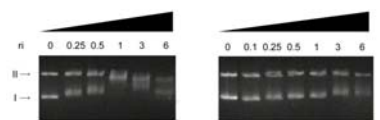
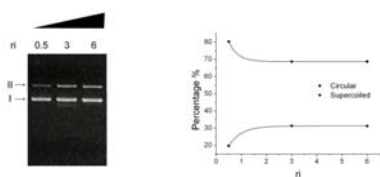
ADN como blanco: profármacos biorreductivos



derivados
 N^1, N^4 -
dióxido de
quinolina

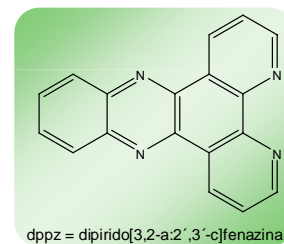
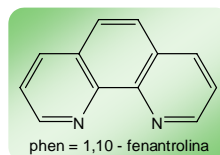
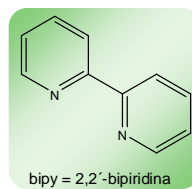


[Pd(L-H)₂]

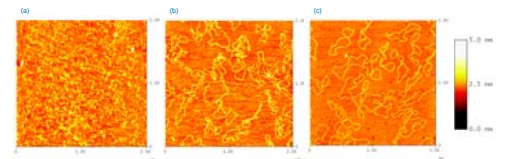
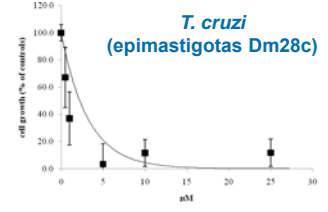
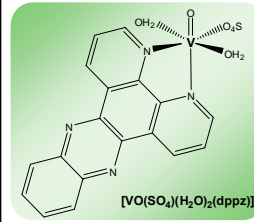
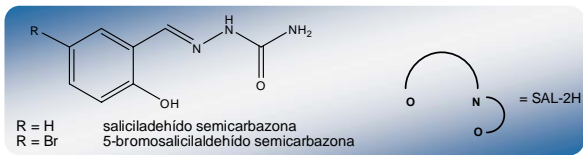
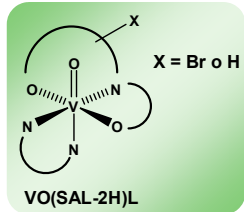
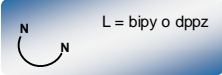


Bioorg. Med. Chem. 2009, 17, 1623

Coligandos intercalantes del ADN



Complejos de V de ligandos mixtos



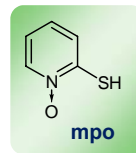
AFM: incubación 1 min con pBR322 en diferentes relaciones molares complejo: pares de bases de ADN (bp): (a) V-dppz:bp = 7:10. (b) V-dppz:bp = 1:20 (c) control pBR322

Actividad anti-Trypanosoma cruzi (epimastigotas Dm28c)

Compuesto	CI ₅₀ /μM
[V ^{IV} O(SO ₄)(H ₂ O) ₂ (dppz)]·2H ₂ O	~3
VO(SAL-2H)dppz	18
VO(SAL-2H)bipy	73
VO(BrSAL-2H)dppz	13
VO(BrSAL-2H)bipy	> 100
Nifurtimox	10

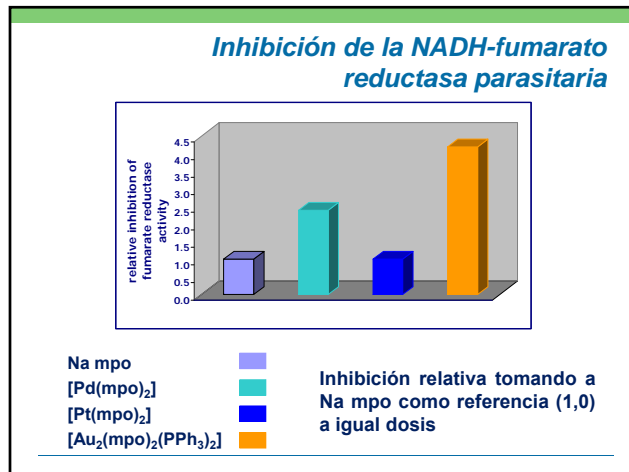
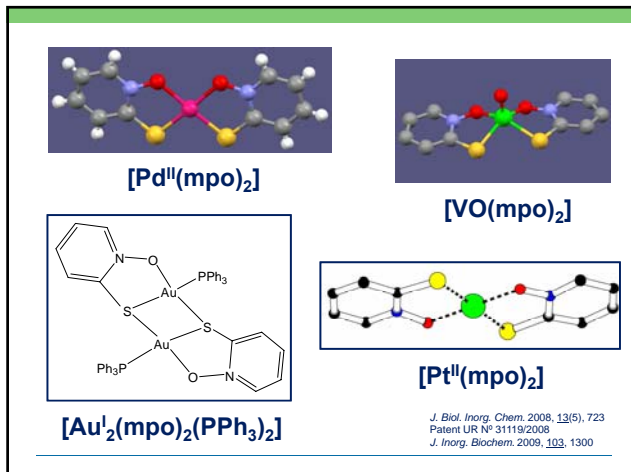
J. Inorg. Biochem. 2009, 103, 1386
J. Inorg. Biochem. 2009, 103, 609

Inhibición de NADH-fumarato reductasa



N-óxido de 2-mercaptopiridina (mpo)

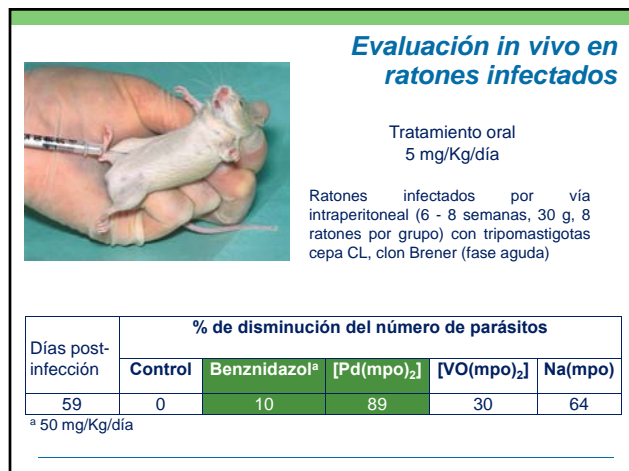
Inhibidor de la NADH-fumarato reductasa de *T. cruzi*

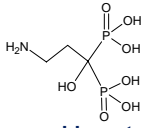


Actividad in vitro contra diferentes cepas de *T. cruzi* y citotoxicidad en células mamíferas

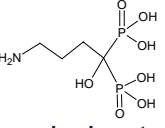
Compuesto	CI ₅₀ ^a <i>T. cruzi</i> (µM)	CI ₅₀ ^a macrófagos (µM)	CI ₅₀ ^a fibroblastos (µM)	IS ^b
Nampo ^c	0,190 ^d 3,35 ^f	0,85	144	4,5
[Pd(mpo) ₂]	0,067 ^d	0,33	-	4,9
[Pt(mpo) ₂]	0,200 ^d	>> 2,0	-	>> 10
[Au ₂ (mpo) ₂ (PPh ₃) ₂]	0,09 ^e	1,7	1,2	19
[VO(mpo) ₂]	1,27 ^f	68	78	54
Nifurtimox	7,700 ^d 6,00 ^e	-	-	-

^a CI₅₀ concentración inhibitoria 50%; ^b IS: índice de selectividad CI₅₀ macrófagos / CI₅₀ *T. cruzi*; ^c Na mpo para comparación; ^d cepa Tulahuen 2; ^e cepa Dm28c; ^f cepa CL-B5

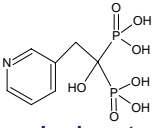





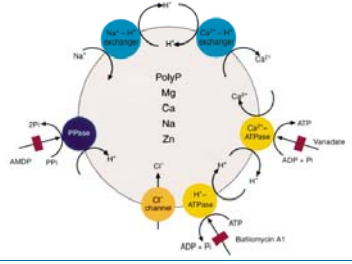
pamidronato



alendronato



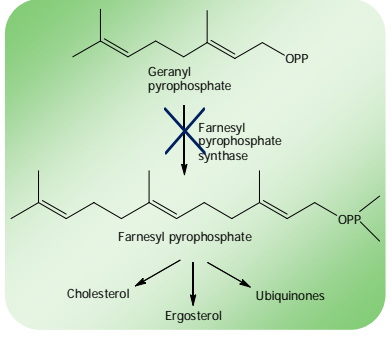
risedronato

Bisfosfonatos

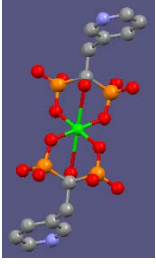
Bisfosfonatos

**diana :
ruta biosintética a
poliisoprenoides y
esteros (FPPS)**

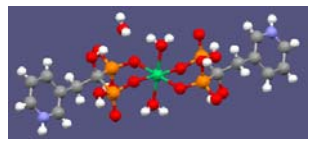


PATHWAY	COMPOUND
Mevaconic acid	
↓	4-Phenoxyphenonyl derivatives Bisphosphonates
Squalene	
↓	Terbinafine
Oxidosqualene	
↓	Tetradecycationic salts
Lanosterol	
↓	Azoles
4,4-Dimethyl-cholesta-8,14,24-trienol	
↓	Ergosterol
	Amphotericin B

Complejos bioactivos de iones metálicos 3d: Mn, Co, Ni, Cu

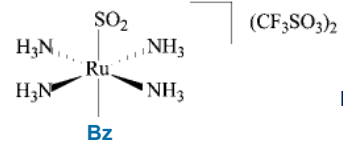
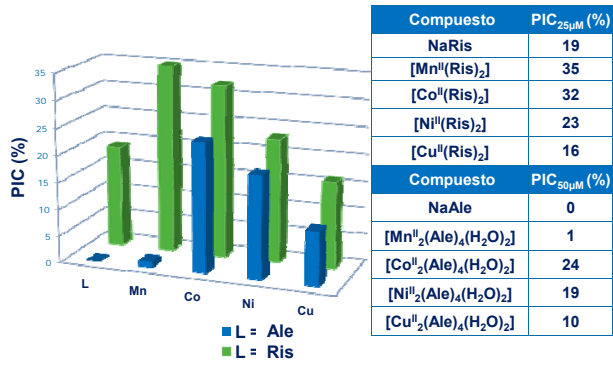


[Cu₂(Ale)₄(H₂O)₂]



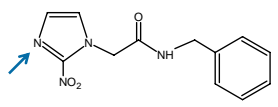
[Ni(Ris)₂(H₂O)₂]

Actividad in vitro contra T. cruzi



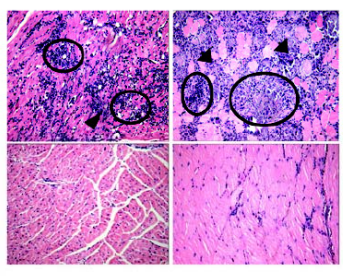
RuBz: IC_{50try/1h} 79 µM
Bz: IC_{50try/1h} 1 mM

baja toxicidad *in vitro* en macrófagos e *in vivo* en ratones infectados (modelo agudo)
mayor solubilidad en agua que Bz



trans-[Ru(Bz)(NH₃)₄(SO₂)](CF₃SO₃)₂

control



RuBz elimina las amastigotas de corazón y músculo esquelético

RuBz

