

QUIMIOTERAPIA PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. AVANCES Y PERSPECTIVAS

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*; enfermedad de Chagas; quimioterapia; agentes antiparasitarios.
Key words: *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; chemotherapy; antiparasitic agents.

Trypanosoma cruzi es el parásito responsable de la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, la cual es endémica desde el sur de los Estados Unidos hasta el sur de Argentina. Esta enfermedad es una infección oportunista bien reconocida en pacientes con SIDA. El número de personas infectadas con *T. cruzi* disminuyó de 18 millones en 1991 a 6 millones en 2010, pero sigue siendo la enfermedad parasitaria más prevalente en América. La quimioterapia actual para la enfermedad de Chagas sigue siendo deficiente. Los dos medicamentos disponibles para el tratamiento, nifurtimox y benznidazol están asociados a tratamientos prolongados con efectos secundarios graves. Además, benznidazol está aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos solamente para uso pediátrico; por lo tanto, en ese país, sólo está disponible bajo protocolos CDC. Un blanco molecular útil para la identificación de nuevas moléculas contra los trypanosomátidos es la biosíntesis de isoprenoides. Las enzimas involucradas en la síntesis de esteroides y difosfato de farnesilo, se consideran como excelentes blancos moleculares contra parásitos patógenos. Sobre la base de la hipótesis que la biosíntesis de isoprenoides constituye un target válido para el tratamiento de enfermedades parasitarias, se han desarrollado numerosos compuestos y evaluado su acción como agentes antiparasitarios contra *T. cruzi*. También existen otras rutas metabólicas que serán tratadas brevemente.

Trypanosoma cruzi is the parasite responsible for American trypanosomiasis or Chagas disease, which is endemic from the southern United States to southern Argentina. This disease is a well-recognized opportunistic infection in AIDS patients. The number of people infected with *T. cruzi* declined from 18 million in 1991 to 6 million in 2010, but it remains the most prevalent parasitic disease in America. Current chemotherapy for Chagas disease remains deficient. The two drugs available for treatment, nifurtimox and benznidazole are associated with prolonged treatments with serious side effects. In addition, benznidazole is approved by the Food and Drug Administration (FDA) of the United States only for pediatric use; therefore, in that country, it is only available under CDC protocols. A useful molecular target for the identification of new molecules against trypanosomatids is the biosynthesis of isoprenoids. Enzymes involved in the synthesis of sterols and farnesyl diphosphate are considered as excellent molecular targets against pathogenic parasites. Based on this hypothesis, numerous compounds have been developed and evaluated as antiparasitic agents against *T. cruzi*. There are also other metabolic pathways that will be briefly treated.

El médico brasileño Carlos Chagas describió por primera vez a la tripanosomiasis americana, más conocida ahora como la enfermedad de Chagas, como una parasitosis crónica causada por el parásito kinetoplastido *Trypanosoma cruzi* (Rodríguez y col., 2016). Desde la primera manifestación clínica de la enfermedad de Chagas en un paciente con SIDA en 1990 (Del Castillo y col., 1990), se han informado numerosos casos de reactivación de la enferme-

dad de Chagas en estos pacientes inmunosuprimidos (Vaidian y col., 2004). El sistema nervioso central es el sitio más comúnmente afectado a través de meningoencefalitis en aproximadamente el 75% de los casos (Del Castillo y col., 1990, Gluckstein y col., 1992; Vaidian y col., 2004). También el corazón se observa habitualmente afectado con miocarditis (Vaidian y col., 2004). El número de personas infectadas con infección por *T. cruzi* disminuyó de

18 millones en 1991 a 6 millones en 2010 gracias a las políticas públicas para el control de los vectores de las enfermedades de Chagas, insectos como *Triatoma infestans* (vinchuca), *Rhodnius prolixus*, *T. dimidiata*, *T. pseudomaculata*, *Pastrongylus megistus* y otras especies (selváticas o domésticas). [3]. Sin embargo, la enfermedad de Chagas sigue siendo la enfermedad parasitaria más prevalente en América. Al igual que otros trypanosomátidos, *T. cruzi* tiene un

Juan Bautista Rodríguez

Departamento de Química Orgánica and UMYMFOR (CONICET-FCEyN), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Pabellón 2, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

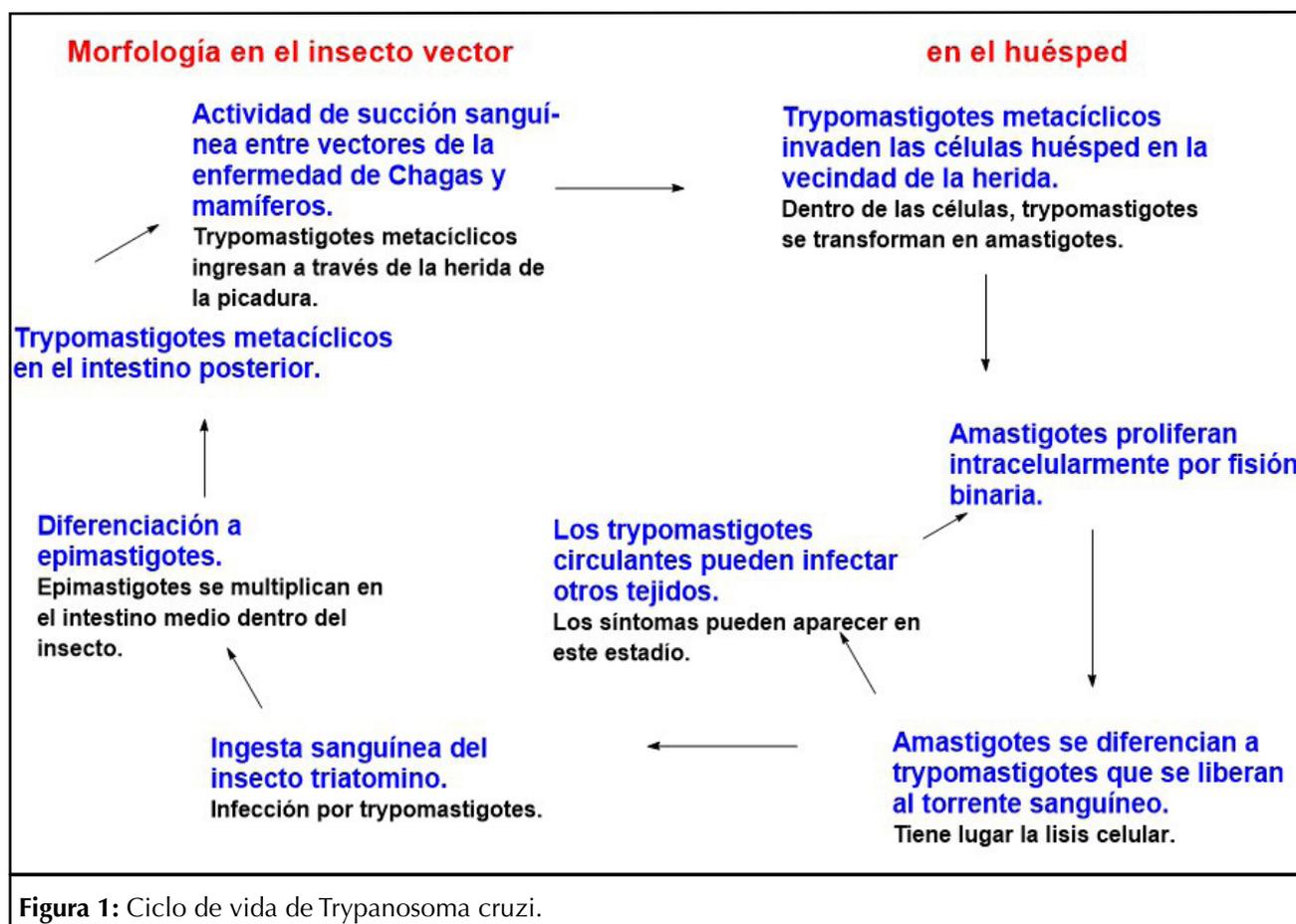
E-mail: jbr@qo.fcen.uba.ar

ciclo de vida complejo que implica la actividad de succión sanguínea entre insectos Reduviid y los mamíferos huéspedes (Brener, 1973). El parásito se multiplica en el intestino del insecto en la morfología conocida como epimastigote y se disemina como trypomastigotes metacíclicos, una forma no divisible y altamente infectiva presentes en las heces del insecto. Luego, invade al huésped por la contaminación de la mucosa intacta o las heridas producidas por la actividad de succión sanguínea del vector. En el huésped, una vez producida la invasión, *T. cruzi* se diferencia a la forma amastigote donde prolifera intracelularmente y, posteriormente, se libera al torrente sanguíneo como trypomastigotes no divisibles con la capacidad de invadir nuevos tejidos como se ilustra sucintamente en la Figura 1 (Brener, 1973). La transmisión de

la enfermedad de Chagas también puede ocurrir a través de la placenta o por transfusión sanguínea, la cual es responsable de la aparición de esta enfermedad en zonas geográficas donde no es endémica, probablemente debido a viajes e inmigración de personas infectadas de otras áreas. Como la forma amastigote es la forma divisible clínicamente más relevante de *T. cruzi*, se concentra en esta forma todo el esfuerzo para el desarrollo de nuevos tratamientos para la enfermedad, en particular, el diseño de nuevas moléculas con un modo de acción conocido.

En la actualidad no existen vacunas para prevenir la infección por *T. cruzi*. La quimioterapia para el tratamiento de la enfermedad de Chagas se basa en dos fármacos descubiertos empíricamente cuyas estructuras químicas se ilustran en

la Figura 2: nifurtimox (Lampit®, Bayer - El Salvador, 1) y benznidazol (Abarax®, Elea - Argentina, 2), los cuales son efectivos para lograr curas completas en al menos el 50% de las infecciones recientes (Urbina y Docampo, 2003). Ambos medicamentos producen efectos secundarios severos como vómitos, anorexia, neuropatía periférica y dermatopatía alérgica. Tanto nifurtimox como benznidazol, no son medicamentos aprobados por la FDA. En los Estados Unidos están disponibles exclusivamente bajo protocolos de investigación CDC (Center for Disease Control and Prevention). Sin embargo, benznidazol ha sido aprobado recientemente para infecciones agudas en niños. (Alpern y col., 2017). A partir de 2012, Laboratorios ELEA y Maprimed producen benznidazol. Además, estos fármacos no son adecuados para mujeres



embarazadas (Docampo y Moreno, 1985). Los efectos tóxicos de estos fármacos están asociados a su modo de acción, es decir, a cómo actúan selectivamente en células del parásito sobre las células del huésped. Las primeras son más susceptibles al estrés oxidativo que generan estos compuestos afectando en menor medida a las células del huésped, de ahí su efecto tóxico. Finalmente, la principal debilidad de estos dos fármacos es su modesta actividad antiparasitaria en la fase crónica de la enfermedad. Por último, en ausencia de una reconstitución inmune, se requiere una terapia supresora crónica, este hecho está asociado a la neurotoxicidad provocada por estas moléculas (Rodríguez y col., 2016a).

Otros fármacos disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Chagas son itraconazol (3) y alopurinol (4). Sin embargo, ninguno de estos compuestos ofrece tratamientos satisfactorios en las etapas crónicas y agudas de la enfermedad (Urbina y Docampo, 2003). El colorante violeta de genciana (5) es un agente quimioproláctico que se ha empleado para prevenir la transmisión de la enfermedad de Chagas a través de transfusiones. Desafortunadamente, este medicamento le da un

color púrpura a la sangre y mancha la piel. Además, se han planteado problemas de seguridad, ya que se demostró que era cancerígeno en modelos animales (Figura 2) (Urbina y Docampo, 2003).

La estrategia racional para el desarrollo de una quimioterapia para el tratamiento de cualquier enfermedad parasitaria se basa en poseer un conocimiento cabal de la bioquímica y fisiología del microorganismo involucrado y sus deferencias con el huésped (Rodríguez y col., 2016a). Este conocimiento, en el caso de *T. cruzi*, ha conducido al descubrimiento de nuevos caminos metabólicos y enzimas claves para el diseño de nuevos fármacos. De esta manera, basándose en las diferencias metabólicas entre el huésped mamífero y el parásito, se han establecido distintos blancos moleculares muy interesantes para el desarrollo de una quimioterapia segura, eficaz y que sea efectiva para todas las cepas de *T. cruzi* en distintas zonas geográficas. Se pueden mencionar como los blancos moleculares más destacados y que se tienen en cuenta en la actualidad para el diseño de nuevos fármacos a la biosíntesis de esteroides, al metabolismo del pirofosfato, a la biosíntesis de tripanotionona,

las cisteín proteasas, las metacaspasas, las metalopeptidasas, las proteín preniltransferasas y otras (Rodríguez y col., 2016a).

Es importante mencionar a la biosíntesis de esteroides como el blanco de nuevas drogas. En efecto, los trypanosomatidos como *T. cruzi* requieren de un estricto suministro de esteroides endógenos. Específicamente, de ergosterol, el cual es esencial para la membrana celular. Los mamíferos biosintetizan colesterol en lugar de ergosterol, por lo tanto, este metabolito no puede obtenerse del huésped. Los isoprenoides son compuestos esenciales de la maquinaria celular de todos los organismos vivos debido a su papel en una variedad de procesos biológicos. Se han descrito a numerosas enzimas de este camino biosintético en *T. cruzi*, involucradas en la biosíntesis de esteroides (Buckner y Urbina, 2012) y difosfato de farnesilo (Docampo y Moreno, 2001) y en prenilación proteica (Gelb y col., 2003), como excelentes blancos farmacológicos contra parásitos patógenos. A pesar de su variedad estructural y funcional, todos los isoprenoides derivan de un precursor común: difosfato de isopentenilo (IPP) y de su isómero, difosfato de dimetilalilo (DMAPP).

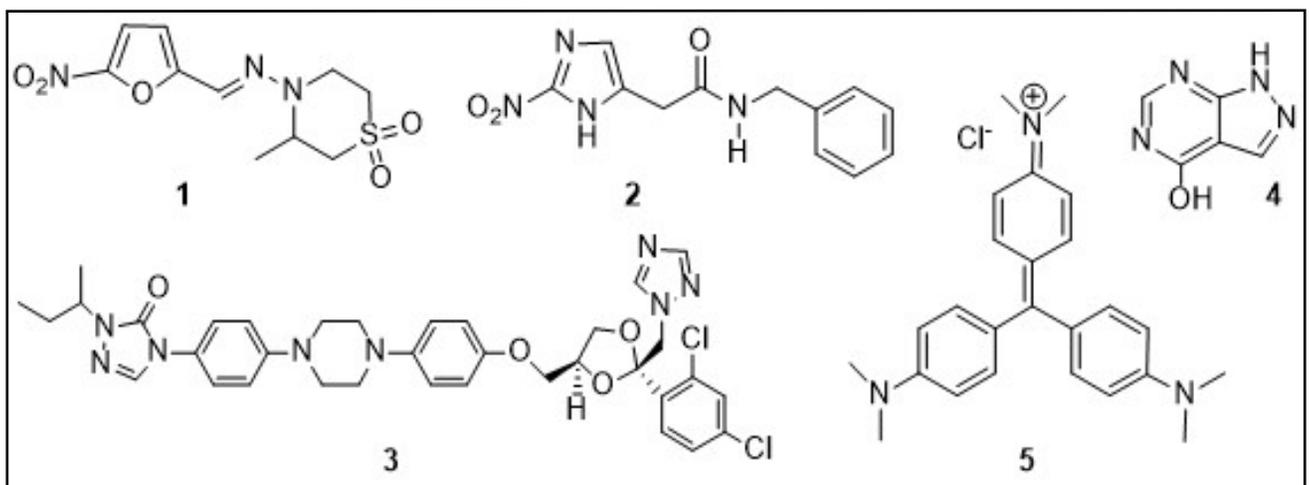


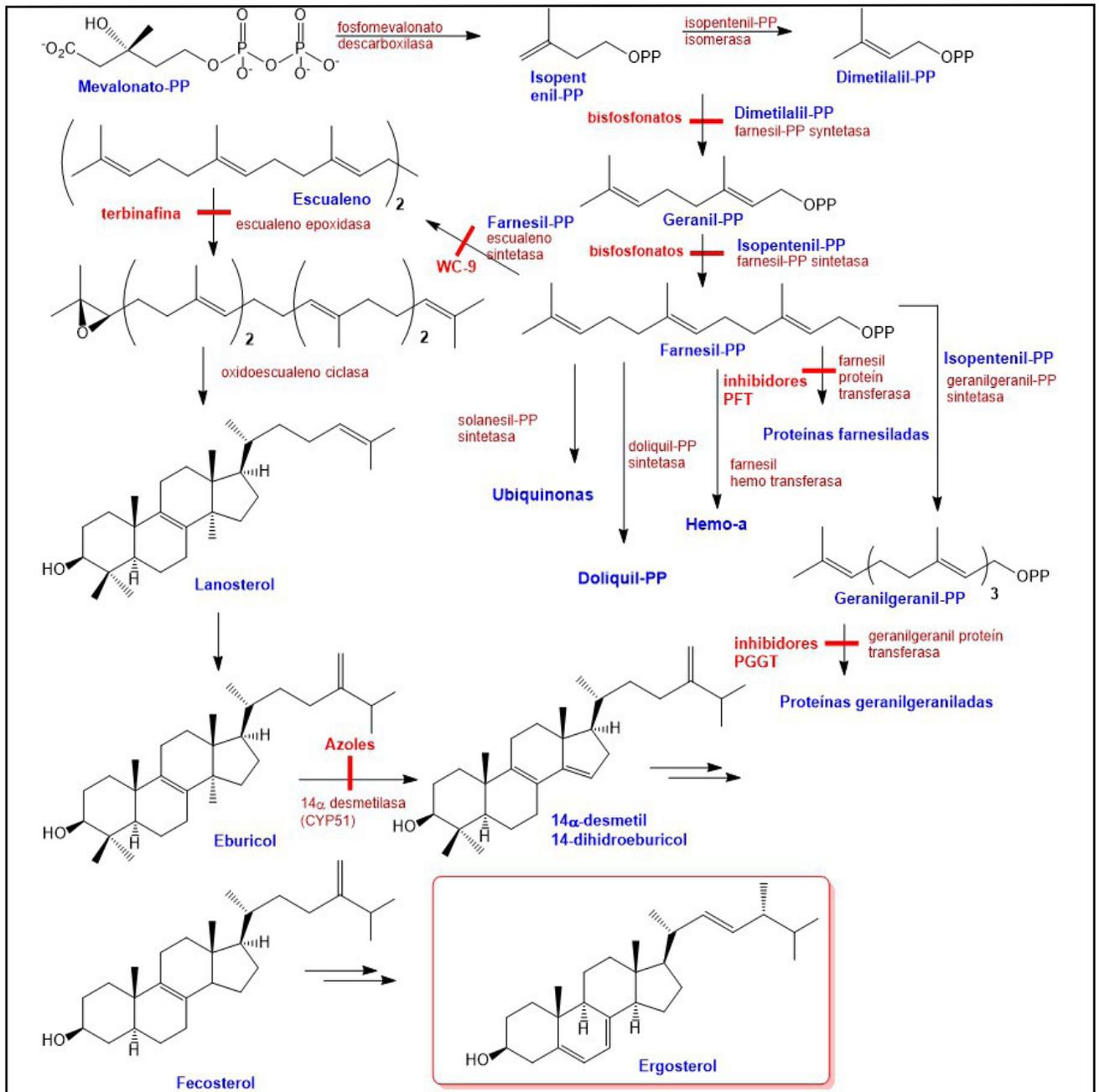
Figura 2: Principios activos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

En *T. cruzi*, IPP se sintetiza sólo a través de la llamada ruta del mevalonato, que tiene a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) como enzima reguladora clave (Eberl y col., 2003).

Se han clonado hasta la fecha, en trypanosomátidos, los genes que codifican para farnesil difosfato sintetasa (FPPS) (Montalvetti y col., 2001,

2003). Además, ubiquinona 9 (UQ-9), el producto de condensación del ácido 4-hidroxibenzoico y difosfato de solanesilo (SPP, C45), está presente en *Leishmania spp*, *T. brucei*, *Crithida fasciculata* y *L. major*, los precursores marcados se incorporan a UQ sugiriendo la presencia de una solanesil difosfato sintetasa (SPPS) en *T. cruzi* (Ferella y col., 2006). Farnesil difosfato sintetasa (FPPS) cataliza

la condensación consecutiva de IPP con DMAPP y con difosfato de geranilo (GPP) para formar difosfato de farnesilo (FPP). FPP es el sustrato de las enzimas que catalizan el primer paso obligado para la biosíntesis de esteroides, ubiquinonas, dolicoles, hemo a y proteínas preniladas. FPP podría condensarse con una molécula adicional de IPP catalizado por geranilgeranil difosfato sintetasa



Esquema 1: Biosíntesis de isoprenoides en *Trypanosoma cruzi*.

(GGPPS) para dar lugar al isoprenoide de 20 carbonos GGPP. El gen FPPS parece ser esencial en todos los organismos (Rodríguez y col. 2016b). La comparación de la secuencia de aminoácidos de los FPPS de diferentes organismos, muestra la presencia de siete regiones conservadas que incluyen dos dominios ricos en aspartato, que son muy importantes para la acción catalítica y, muy probablemente, actúen como los sitios de unión para IPP y los sustratos alílicos. Hasta ahora todas las FPPS que se han caracterizado son enzimas homodiméricas que requieren iones metálicos divalentes como Mg^{2+} o Mn^{2+} para su actividad. Estas enzimas están localizadas en el citosol (Ferella y col., 2008). En el Esquema 1 se ilustra la biosíntesis de ergosterol siguiendo la ruta del mevalonato. Las barras rojas señalan inhibidores de la actividad enzimática de la enzima correspondiente.

Los azasteroles son conocidos inhibidores de $\Delta^{24(25)}$ -esterol metiltransferasa. Este tipo de fármacos exhibieron efectos antiproliferativos selectivos contra los parásitos tripanosomátidos (Urbina, 2010). Por ejemplo, 22,26-azasterol (**6**) es un potente inhibidor de la actividad enzimática de la $\Delta^{24(25)}$ -esterol metil-

transferasa. Esta actividad enzimática está asociada con una inhibición efectiva del crecimiento de células de *T. cruzi* *in vitro* e *in vivo*.

La biosíntesis de esteroides en hongos es similar a la correspondiente en trypanosomátidos, los fármacos utilizados actualmente como antifúngicos de amplio espectro podrían reutilizarse como agentes antiparasitarios. Tanto *T. cruzi* como hongos y levaduras requieren de esteroides endógenos específicos para su viabilidad y crecimiento celular. Si bien la mayoría de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides clínicamente en uso no son capaces de inducir una cura parasitológica completa en la enfermedad de Chagas, algunos ejemplos resultan interesantes para su discusión. Un agente antifúngico de amplio espectro es ketoconazol (**7**), un derivado del imidazol que se comporta como un potente inhibidor de la proliferación de *T. cruzi* inhibiendo la actividad enzimática de 14α -desmetilasa (Lepesheva y col., 2011, 2010).

El derivado bis-triazólico conocido como D0870 (**8**) es un ejemplo interesante de un agente antifúngico para controlar infecciones con *T. cruzi*. Este compuesto puede lograr

cura parasitológica completa en modelos murinos de las etapas aguda y crónica de esta enfermedad (Urbina, 2010).

Por otro lado, posaconazol (**9**) es un derivado de triazol que bloquea a 24α -desmetilasa exhibiendo una actividad antifúngica de amplio espectro y una acción inhibitoria de crecimiento en células de *T. cruzi*. Además, es efectivo contra una variedad de cepas de *T. cruzi* resistentes a benznidazol, nifurtimox y ketoconazol. Ravuconazol (**10**) es otro agente antifúngico potente y de amplio espectro que posee una potente acción inhibitoria contra la proliferación de *T. cruzi* inhibiendo la biosíntesis de ergosterol a nivel de esteroide $C_{14\alpha}$ desmetilasa dependiente de citocromo P-450. Una prodroga de ravuconazol muy interesante es el fosfonooximetil derivado **11** con mucha mejor solubilidad acuosa (Ueda y col. 2003). Esta prodroga libera ravuconazol por hidrólisis catalizada por una fosfatasa alcalina para dar el hemiacetal correspondiente, el cual es muy lábil liberando ravuconazol (Ueda y col. 2003). Este compuesto estuvo en fases clínicas pero finalmente no resultó apropiado. TAK-187 (**12**) es otro antifúngico y un inhibidor nanomolar del crecimiento de amastigotes de *T. cruzi*. Recientemente, se han previsto compuestos más simples y baratos en comparación con la estructura química del posaconazol que dan lugar a potentes inhibidores de la proliferación de *T. cruzi*, como **13** que actúan en el rango bajo nanomolar (Lepesheva, 2013). Las estructuras químicas de estas drogas antifúngicas se ilustran en la Figura 4.

En resumen, la enzima esteroide 14α desmetilasa constituye un blanco molecular válido para el diseño de fármacos para una quimioterapia segura de la enfermedad de Chagas.

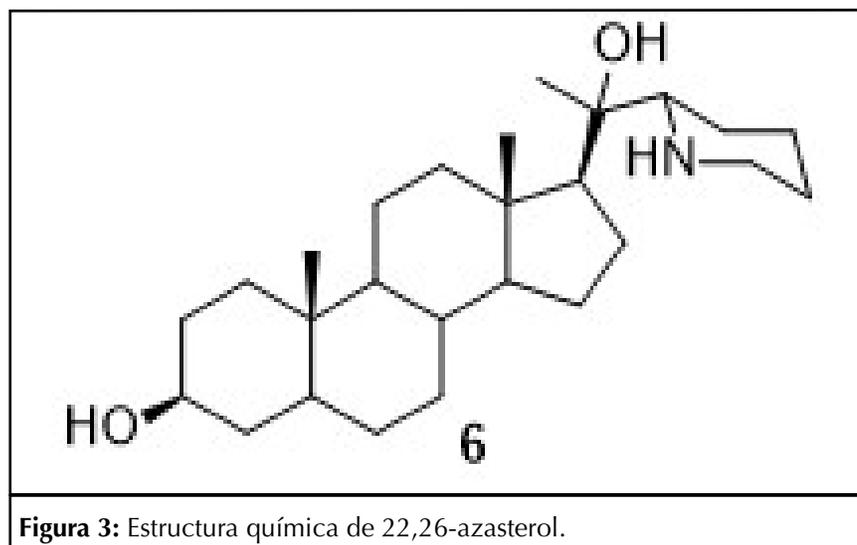


Figura 3: Estructura química de 22,26-azasterol.

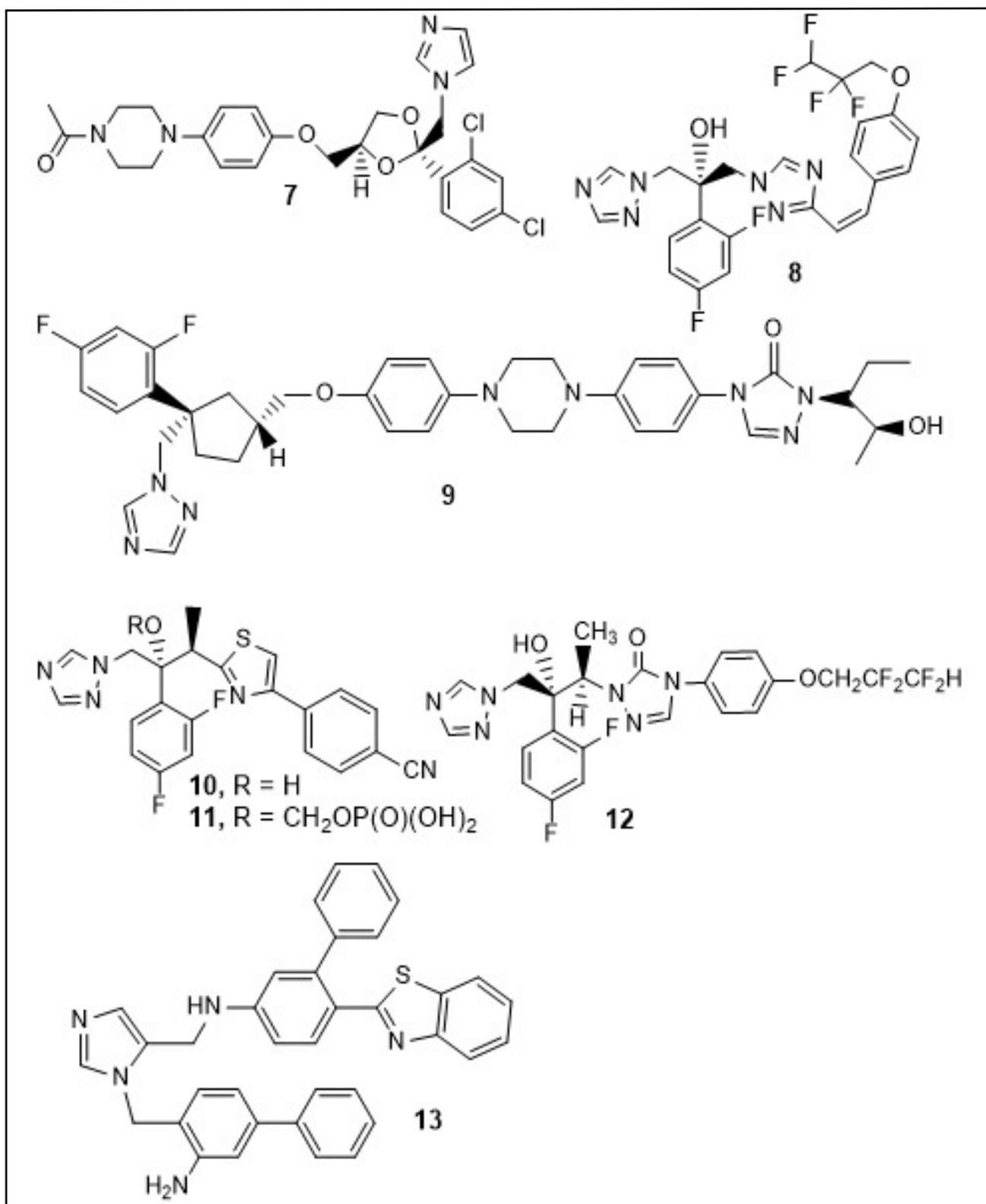


Figura 4: Estructuras químicas de inhibidores representativos de la actividad enzimática de 14 α desmetilasa que presentan una acción inhibitoria efectiva del crecimiento de *T. cruzi*.

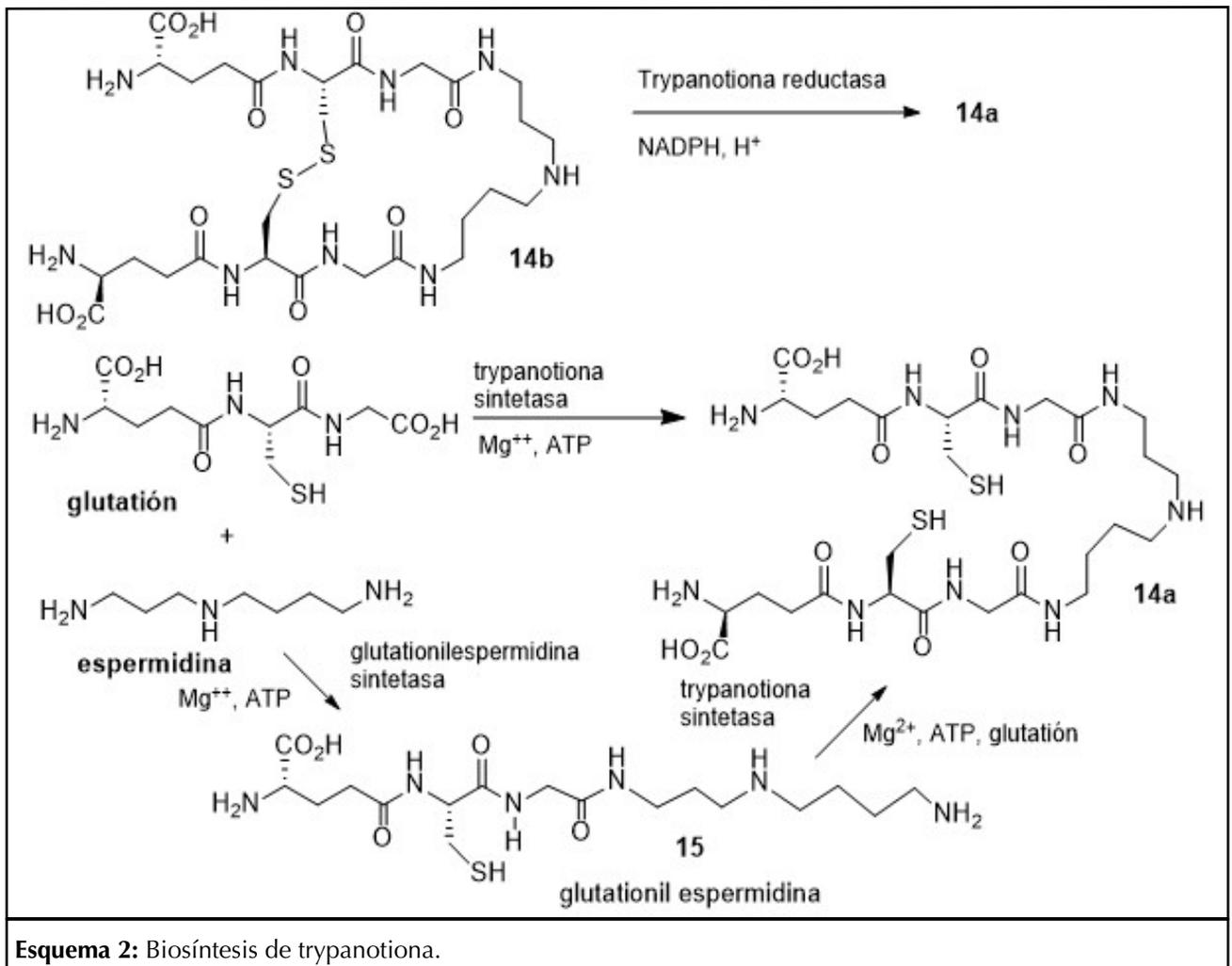
Sin embargo, a pesar que posaconazol y ravuconazol habían mostrado gran potencialidad, no superaron las fases clínicas de evaluación (Clayton, 2010). Una limitación adicional de posaconazol es su costo elevado que podría restringir su uso.

Otro blanco molecular de interés es el mecanismo particular para controlar el equilibrio redox celular basado en trypanotona (N^1, N^8 -bis-glutationilespermidina; **14**) y la flavoenzima dependiente de NADPH trypanotona reductasa que protegen las células de parásitos del estrés oxidativo del mismo modo a que lo hace glutatión y glutatión reductasa en mamíferos. Los dos últimos pasos de la biosíntesis de trypanotona son los más relevantes como blancos

moleculares ya que la enzima involucrada trypanotona sintetasa (TryS) no tienen contraparte en mamíferos. La biosíntesis de trypanotona se detalla en el Esquema 2. Aún no está claro cómo tiene lugar la conjugación en todos los parásitos del orden Kinetoplastida. Estas enzimas no están presentes en mamíferos, y por esta razón, se puede postular que el defecto de este metabolito conduciría a una inhibición del crecimiento del parásito (Ravaschino y col., 2006). Si bien este metabolito ha despertado el interés de muchos grupos de investigación para una quimioterapia alternativa y moderna, aún no se ha encontrado una molécula con gran potencial.

Como se mencionó anteriormen-

te (FPPS) es una enzima clave en la biosíntesis de isoprenoides. La sustitución del átomo de oxígeno puente de pirofosfato (**16**) por grupos metileno sustituidos da lugar a compuestos metabólicamente estables conocidos como bifosfonatos (**17**), diseñados inicialmente para imitar la estructura química del pirofosfato. Varios bifosfonatos como etidronato, clodronato, pamidronato, alendronato, risedronato y otros están en uso clínico para el tratamiento de trastornos óseos (Rodríguez y col., 2016b). La acción selectiva sobre el hueso se basa en la unión del grupo bisfosfonato al mineral óseo. Los acidocalcisomas, organelas ricas en calcio y magnesio, son equivalentes en composición química al mineral óseo; entonces, la acumulación



de bisfosfonatos en estas organelas, como lo hacen en el mineral óseo, facilita la acción antiparasitaria. Por estas razones, estos compuestos fueron inhibidores del crecimiento de *T. cruzi* (amastigotes) con valores de ED₅₀ en el rango bajo micromolar. **18** surge como miembro representativo (ED₅₀ = 18 μM). Esta actividad celular correlacionaba con la inhibición de la actividad enzimática de TcFPPS, siendo un inhibidor competitivo (IC₅₀ = 1.94 μM; K_i = 0.40 μM). Los estudios de estructura / actividad (SAR) indicaron que la sustitución del grupo hidroxilo en C-1 en **18** por un átomo de hidrógeno resultaba en un compuesto menos eficaz (**20**) ya sea como un inhibidor de la enzima (TcFPPS) o contra células de *T. cruzi*. Por otro lado, el derivado **21**, era un compuesto eficaz contra TcFPPS en el rango nanomolar, aunque modesto contra la proliferación de *T. cruzi*. Además, los α-fluoro derivados **22** y **23** no fueron efectivos contra amastigotes de *T. cruzi* ni contra la enzima blanco TcFPPS. Los derivados de 2-alkil(amino)etil-1,1-bisfosfonatos resultaron inhibidores extremadamente potentes de la proliferación

de *T. cruzi* cuyo blanco molecular era TcFPPS con valores IC₅₀ en el rango bajo nanomolar, destacándose **24–26** en este tipo de bisfosfonatos. **27** fue un ejemplo interesante de un bisfosfonato lineal, diseñado con el fin de optimizar las estructuras **24–26**, teniendo en cuenta que la presencia de un grupo atractor de electrones (HO-) en C-1 mejoraría la capacidad de coordinar Mg²⁺, aumentaría pK_a y también por el hecho de que la mayoría de los bisfosfonatos clínicamente en uso poseen esta funcionalidad en C-1. **27** resultó libre de actividad contra el crecimiento de *T. cruzi* y TcFPPS, pero fue efectivo contra FPPS de otros parásitos. Los bisfosfonatos lineales que contienen azufre como **28** y **29** no fueron efectivos en *T. cruzi*. Tampoco lo fue la sulfona **30** que resultó muy efectiva contra *Toxoplasma gondii*, el agente responsable de la toxoplasmosis. El derivado de metilsulfonio **31** ha demostrado ser un inhibidor del crecimiento moderado contra *T. cruzi* como *T. gondii*, pero un inhibidor muy potente hacia TcFPPS. Finalmente, los derivados α-fluoro-2-alkil(amino)etil deriva-

dos **32** resultaron, inesperadamente, libres de actividad celular (Galaka y col., 2019). Las estructuras de estos bisfosfonatos se presentan en la Figura 5.

Dado que los trypanosomátidos tienen un requerimiento estricto de esteroides endógenos específicos y no utilizan la profusa fuente de colesterol presente en el huésped, los inhibidores de la biosíntesis de esteroides, con las propiedades farmacocinéticas apropiadas, pueden inducir cura parasitológica radical tanto en modelos agudos como crónicos de la enfermedad de Chagas (Urbina, 2010). Tiocianato de 4-fenoxifenoxietilo (**33**; **WC-9**) es un droga líder que presenta valores de ED₅₀ en el rango bajo nanomolar contra la forma divisible clínicamente más relevante de *T. cruzi* (amastigotes). Se encontró que el efecto inhibitorio de **WC-9** estaba asociado a la eliminación de esteroides endógenos indicando un bloqueo de la biosíntesis a nivel pre-escualeno. Escualeno sintetasa es el target de **WC-9** siendo un potente inhibidor no competitivo (K_i = IC₅₀) de TcSQS tanto glicosomal

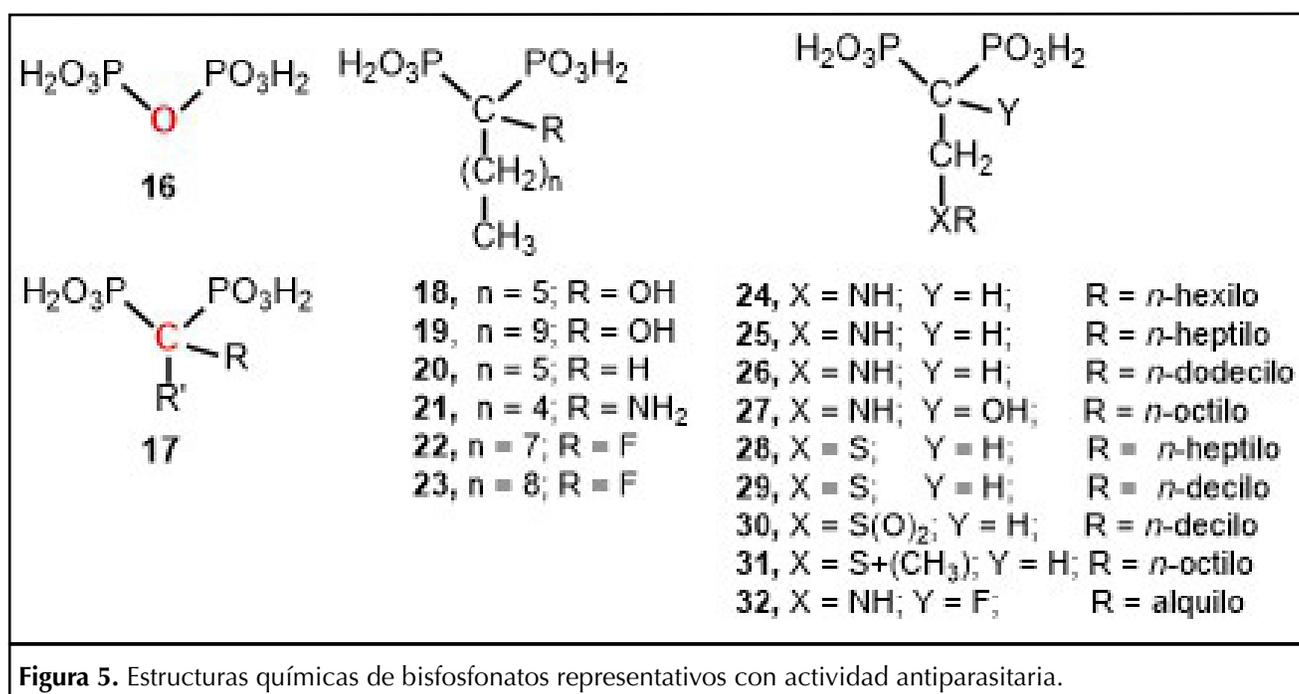


Figura 5. Estructuras químicas de bisfosfonatos representativos con actividad antiparasitaria.

como mitocondrial ($IC_{50} = 0,088 \mu\text{M}$ y $0,129 \mu\text{M}$, respectivamente). Los compuestos **34-43** son relevantes a partir de estudios SAR. En particular, los compuestos de organoselenio **41-43** resultaron inhibidores extremadamente efectivos del crecimiento de *T. cruzi* (amastigotes) siendo dos órdenes de magnitud más potentes que **WC-9** y excelentes valores de índice de selectividad (Figura 6) (Chao y col, 2019).

En definitiva, existen numerosos targets relevantes para diseño racional de drogas que sean útiles para el tratamiento y seguimiento de la enfermedad de Chagas. Estos fármacos, concebidos racionalmente, deben aprovechar las diferencias metabólicas entre el agente etiológico de esta enfermedad, el protozoario *T. cruzi* y el huésped. Uno de los desafíos más importantes de la quimioterapia de la enfermedad de Chagas es

el desarrollo de un compuesto que sea capaz de penetrar la membrana celular de la célula infectada correspondiente. Luego, realizar un viaje a través del complejo entorno presente en el citoplasma celular para, finalmente, penetrar la membrana de los parásitos que se multiplican intracelularmente (amastigotes, la forma clínicamente más relevante del parásito). Finalmente, esta molécula debe llegar a su objetivo para que se produzca la acción farmacológica correspondiente. La enfermedad de Chagas se puede clasificar como una enfermedad desatendida. La mayor parte de la investigación científica en torno a la quimioterapia ha sido llevada a cabo por la Academia. Existe poco interés por la Industria Farmacéutica para llevar a cabo proyectos de investigación y desarrollo, fundamentalmente, por falta de incentivos económicos. A pesar de la reducción en el número

de personas infectadas observada en los últimos años, esta enfermedad sigue siendo una causa importante de mortalidad y deterioro en la calidad de vida en los países donde es endémica. En efecto, su aparición está asociada a la pobreza y a la baja calidad habitacional que facilitan la propagación de la misma. En los países donde la enfermedad de Chagas no es endémica, su transmisión es congénita o a través de la transfusión de sangre infectada de personas que se desplazan desde otras áreas.

Como se mencionó anteriormente, solo existen dos medicamentos disponibles para el tratamiento de esta zoonosis crónica: nifurtimox y benznidazol. Estos fármacos exhiben inconvenientes, algunos serios. No son efectivos contra algunas de cepas de *T. cruzi*, están asociados a tratamientos prolongados, presentan efectos secundarios importantes, no

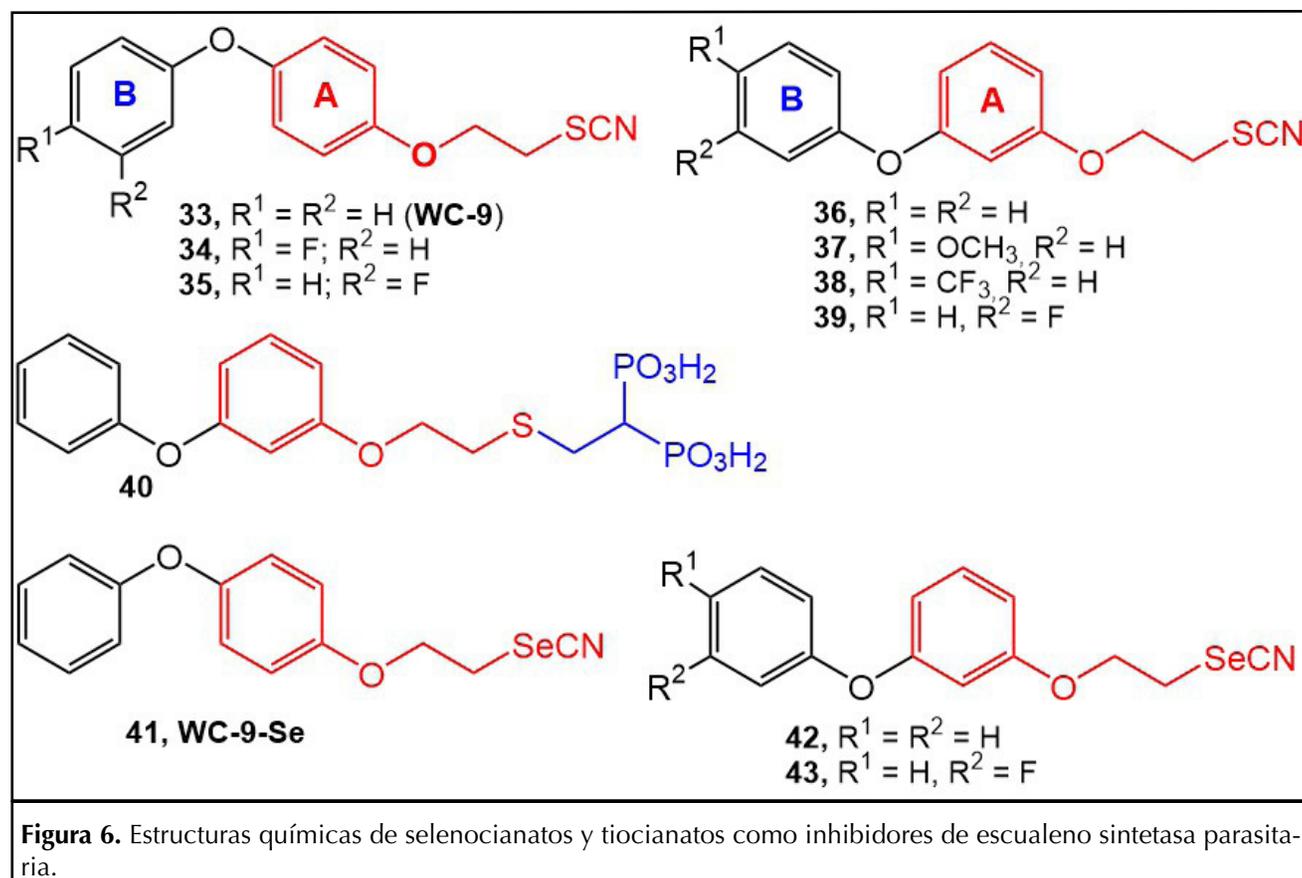


Figura 6. Estructuras químicas de selenocianatos y tiocianatos como inhibidores de escualeno sintetasa parasitaria.

son efectivos en la fase crónica de la enfermedad y no están aprobadas por la FDA, salvo el caso de benznidazol para uso pediátrico. Evidentemente, existe una necesidad real de una quimioterapia segura basada en el concepto de diseño racional de drogas para la búsqueda de nuevas moléculas efectivas y efectos secundarios mínimos.

Teniendo en cuenta las investigaciones desarrolladas a lo largo de los años, se puede concluir que hay varios caminos metabólicos disponibles que sean útiles para el diseño de un nuevo fármaco. De particular interés es la biosíntesis de ergosterol, un metabolito crucial para el parásito, ya que es un componente clave de la membrana celular. Muchas enzimas en esta ruta biosintética son blancos moleculares interesantes: $\Delta^{24(25)}$ -esterol metiltransferasa, 14α -desmetilasa (CYP51), escualeno epoxidasa y escualeno sintetasa. A partir de estas enzimas, 14α -desmetilasa emerge como un *target* destacado porque cuenta con potentes inhibidores descritos hasta ahora. En efecto, posaconazol (**9**) y prodroga de ravuconazol (**10**), E1224 (**11**), actúan inhibiendo la actividad enzimática de esta enzima en el rango bajo nanomolar. Posaconazol y ravuconazol son medicamentos antimicóticos conocidos, aunque tienen la desventaja de ser demasiado caros desde el punto de vista de la fabricación. Sin embargo, a pesar de tener esta potente acción inhibitoria, la evaluación clínica de posaconazol y E1224 en la enfermedad de Chagas crónica no resultó satisfactoria. Además, farnesil difosfato sintetasa también tiene un gran potencial teniendo en cuenta la disponibilidad de datos estructurales sobre la unión de sus inhibidores en el sitio activo de la enzima, en particular los inhibidores competitivos de la misma y análogos estructurales del sustrato natural que son los bis-

fosfonatos. Por otro lado, tiocianato de 4-fenoxifenoxietilo (**WC-9**) y su análogo isostérico, selenocianato de 4-fenoxifenoxietilo selenocianato (**WC-9-Se**) constituyen uno de los pocos ejemplos de una droga líder con grupos tiocianato (selenocianato) unidos covalentemente al esqueleto principal. Estos compuestos son inhibidores no competitivos de la actividad enzimática de escualeno sintetasa y poseen las características de tipo droga (*drug-like character*) lo que les da una gran potencialidad (Rodríguez y col., 2016a). Trypanotona sintetasa, la enzima que cataliza la formación de glutationilpermidina y trypanotona, metabolito responsable de mantener el equilibrio redox celular en trypanosomatidos, no tiene contrapartida en mamíferos. Finalmente, *trans*-sialidasa es una enzima interesante que podría emplearse para controlar el proceso de invasión, especialmente durante la fase aguda de la enfermedad.

En definitiva, solamente del conocimiento profundo de la bioquímica y fisiología de *T. cruzi* será posible disponer de una quimioterapia segura que sea efectiva tanto en la etapa aguda y crónica de la enfermedad como así también en todas las cepas del parásito. Resulta evidente, entonces, la necesidad imperiosa de disponer de nuevas moléculas y distintos enfoques para controlar la enfermedad de Chagas.

■ BIBLIOGRAFIA

Alpern J. D., Lopez-Velez R., Stauffer W. M. (2017) Access to Benznidazole for Chagas Disease in the United States—Cautious Optimism? PLoS Negl. Trop. Dis. 11, 10–14.

Brener Z. (1973) Biology of Trypanosoma cruzi. Annu. Rev. Microbiol. 27, 347–382

Buckner F. S., Urbina J. A. (2012) Recent developments in sterol 14-demethylase inhibitors for Chagas disease. Int J Parasitol Drugs Drug Resist 2, 236–242

Chao M. N., Lorenzo Ocampo M. V., Szajnman S. H., Docampo R., Rodríguez J. B. (2019) Further insights of selenium-containing analogues of WC-9 against Trypanosoma cruzi. Bioorg. Med. Chem. 27, 1350–1361

Clayton J. (2010) Chagas disease: pushing through the pipeline. Nature 465, S12–S15

Docampo R., Moreno S. N. J. (2001) Bisphosphonates as chemotherapeutic agents against trypanosomatid and apicomplexan parasites. Curr. Drug Targets Infect. Disord. 1, 51–61.

Docampo R., Moreno S. N. J. (1985) Biochemical toxicology of antiparasitic compounds used in the chemotherapy and chemoprophylaxis of American trypanosomiasis (Chagas' disease). Rev. Biochem. Toxicol. 7, 159–204

Del Castillo M., Mendoza G., Oviedo J., Perez Bianco R. P., Anselmo A. E., Silva M. (1990) AIDS and Chagas' disease with central nervous system tumor-like lesion. Am. J. Med. 88, 693–694

Eberl M., Hintz M., Reichenberg A., Kollas A. K., Wiesner J., Jomaa H. (2003) Microbial isoprenoid biosynthesis and human gdT cell activation. FEBS Lett. 544, 4–10.

Ferella M., Li Z. H., Andersson B., Docampo R. (2008) Farnesyl diphosphate synthase localizes to the cytoplasm of Trypanosoma cruzi and T. brucei. Exp. Parasitol. 119, 308–312.

- Ferella M., Montalvetti A., Rohloff P., Miranda K., Fang J., Reina S., Kawamukai M., Búa J., Nilsson D., Pravia C., Katzin A., Casseira M. B., Aslund L., Andersson B., Docampo R., Bontempi E. J. (2006) A solanesyl diphosphate synthase localizes in glycosomes of *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* 281, 39339–39348.
- Galaka T., Falcone B. N., Li C., Sza-jnman S. H., Moreno S. N. J., Docampo R., Rodriguez J. B. (2019) Synthesis and biological evaluation of 1-alkylaminomethyl-1,1-bisphosphonic acids against *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* targeting farnesyl diphosphate synthase. *Bioorg. Med. Chem.* 27, 3663–3673
- Gelb M. H., Van Voorhis W. C., Buckner, F. S., Yokoyama K., Eastman R., Carpenter E. P., Panethymitaki C., Brown K. A., Smith D. F. (2003) Protein farnesyl and N-myristoyl transferases: piggy-back medicinal chemistry targets for the development of antitrypanosomatid and antimalarial therapeutics. *Mol. Biochem. Parasitol.* 126, 155–163.
- Gluckstein D., Ciferri, F., Ruskin J. (1992) Chagas' disease: another cause of cerebral mass in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Med.* 92, 429–432.
- Lepesheva G. I. (2013) Design or screening of drugs for the treatment of Chagas disease: what shows the most promise? *Expert Opin. Drug Discov.* 8, 1479–1489.
- Lepesheva G.I., Villalta F., Waterman M. R. (2011) Targeting *Trypanosoma cruzi* sterol 14a-demethylase (CYP51). *Adv. Parasitol.* 75, 65–87.
- Lepesheva G. I., Hargrove T. Y., Anderson S., Kleshchenko Y., Furtak V., Wawrzak Z., Villalta F., Waterman M. R. (2010) Structural insights into inhibition of sterol 14a-demethylase in the human pathogen *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* 285, 25582–25590.
- Montalvetti A., Bailey B. N., Martin M. B.; Severin, G. W.; Oldfield, E.; Docampo, R. (2001) Bisphosphonates are potent inhibitors of *Trypanosoma cruzi* farnesyl pyrophosphate synthase. *J. Biol. Chem.* 276, 33930–33937.
- Montalvetti A., Fernandez A., Sanders J. M., Ghosh S., Van Brusel E., Oldfield E., Docampo R. (2003) Farnesyl pyrophosphate synthase is an essential enzyme in *Trypanosoma brucei*. In vitro RNA interference and in vivo inhibition studies. *J. Biol. Chem.* 278, 17075–17083.
- Ravaschino E. L., Docampo R., Rodriguez J. B. (2006) Design, synthesis and biological evaluation of phosphinopeptides against *Trypanosoma cruzi* targeting trypanothione biosynthesis. *J. Med. Chem.* 49, 426–435.
- Rodríguez J. B., Falcone B. N., Sza-jnman S. H. (2016a) Detection and treatment of *Trypanosoma cruzi*: a patent review (2011–2015). *Expert Opin. Ther. Patents* 26, 993–1015.
- Rodríguez J. B., Falcone B. N., Sza-jnman S. H. (2016b) Approaches for designing new potent inhibitors of farnesyl pyrophosphate synthase. *Expert Opin. Drug. Discov.* 11, 307–320.
- Ueda Y., Matiskella J. D., Golik J., Connolly T. P., Hudyma T. W., Venkatesh S., Dali M., Kang S. H., Barbour N., Tejwani R., Varia S., Knipe J., Zheng M., Mathew M., Mosure K., Clark J., Lamb L., Medin I., Gao Q., Huang S., Chen C. P., Bronson J. J. (2003) Phosphonoxyethyl prodrugs of the broad spectrum antifungal azole, ravuconazole: Synthesis and biological properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13, 3669–3672.
- Urbina J. A. (2010) New insights in Chagas' disease treatment. *Drugs Future* 35, 409–419
- Urbina J. A., Docampo R. (2003) Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol.* 19, 495–501
- Vaidian A. K., Weiss L. M., Tanowitz H. B. (2004) Chagas' disease and AIDS. *Kinetoplastid Biol. Dis.* 3, 2