

336427



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MÉXICO
CAMPUS CHAPULTEPEC

ESCUELA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

INCORPORADA A LA UNAM

EVALUACIÓN "IN VITRO" DE LA ACTIVIDAD
BIOLÓGICA DE LOS DERIVADOS DEL
2-TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOL
EN LOS PARÁSITOS PROTOZOARIOS
Giardia lamblia y *Trichomonas vaginalis*.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA
MARIA DE LOURDES ENRIQUEZ ALVARADO

DIRECTOR. DE TESIS:
M. en C. JAVIER ALFREDO CARBALLO PEREA.
DRA. LILIAN YÉPEZ MULIA

México, D.F.

2005

M352156



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO

- Presidente:** M. Javier Alfredo Carballo Perea.
- Vocal:** Q.F.B. Patricia Melchor Macías.
- Secretario:** Q.F.B. Santiago Amado Salazar López.
- Primer suplente:** M Angélica Olivia Calderón Villagómez.
- Segundo suplente:** M. Agustín Palma de la Cruz.

La parte experimental se realizó en Centro Médico Nacional Siglo XXI, en el Hospital de Pediatría en la Unidad de Investigación de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, bajo la supervisión de la Dra. Lilián Yépez Mulia. El análisis estructura-actividad se llevo a cabo en el Departamento de Química Orgánica de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por todo el amor, apoyo y aliento que me han brindado siempre en mi vida.

A mis hermanos Miguel Angel y Gustavo por el ejemplo que me dan superándose día con día.

A Sergio Amador por su apoyo, cariño y comprensión durante mi carrera.

A Ivan Axel, el cual a partir de su existencia se ha convertido en el estímulo más importante para seguir superándome.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme permitido iniciar mi carrera profesional dentro de sus instalaciones.

A la Universidad del Valle de México por permitirme terminar mi carrera.

A la Unidad de Investigación de Enfermedades Infecciosas y parasitarias, especialmente al laboratorio de parasitología por las facilidades prestadas para la realización de esta tesis.

Al proyecto PAPIIT IN203101 por la beca otorgada para la realización de esta tesis.

CONTENIDO

I.	Introducción	1
II.	Generalidades de los protozoarios <i>Giardia lamblia</i> y <i>Trichomonas vaginalis</i>	3
A.	<i>Giardia lamblia</i>	3
	1.Taxonomía	3
	2.Ciclo de vida	4
	2.1 Trofozoíto	4
	2.2 El quiste	7
	3.Epidemiología	8
	4.Características clínicas	9
	5.Diagnóstico	11
	6.Tratamiento	12
	7.Prevencción	20
B.	<i>Trichomonas vaginalis</i>	21
	1.Taxonomía	21
	2.Morfología	22
	3.Ciclo de vida	23
	4.Epidemiología	24
	5.Características clínicas	26
	6.Diagnóstico	27
	7.Tratamiento	28
	8.Prevencción	29
C.	Fármacos del grupo de los bencimidazoles para el tratamiento de la Giardiosis y la Tricomoniosis.	29
	1.Farmacología de los bencimidazoles	30
	2.Mecanismo de acción	33
	3.Modificaciones estructurales en los bencimidazoles	35
	4.Relaciones estructura-actividad (QSAR)	39
D.	Resistencia a los fármacos de elección para el tratamiento de la Giardiosis y la tricomoniosis.	41
	1.Concepto de resistencia	42
	2.Causas del desarrollo de resistencia	42
III.	Planteamiento del problema	46
IV.	Hipótesis	48

V.	Objetivos	
	A. General	49
	B. Particulares	49
VI.	Material y método	51
VII.	Resultados	55
VIII.	Análisis de resultados	84
IX.	Conclusiones	91
X.	Bibliografía	93

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias son importantes ya que continúan siendo muy extensas y desagradables; de éstas destacan la giardiosis y la tricomoniosis. Tan sólo la Organización Mundial de la Salud ha estimado que de 3000 millones de personas que viven en países en desarrollo, alrededor del 30% sufre giardiosis, lo cual sugiere alrededor de 1000 millones de casos, contribuyendo así a 2.5 millones de muertes anualmente por diarrea. En cuanto a la tricomoniosis la OMS ha reportado 180 millones de infecciones adquiridas en el mundo (Upcroft y Upcroft 2001). En la República Mexicana el boletín de vigilancia epidemiológica en la semana 33 del año 2002 reporta un total de casos de 29826 de giardiosis y 101823 casos de tricomoniosis.

La giardiosis es causada por el protozooario intestinal *Giardia lamblia*. Esta parasitosis es adquirida frecuentemente en albergues por la falta de higiene durante la preparación de alimentos, así como ingestión de agua contaminada, y contacto fecal-oral. Esta infección es más frecuente en niños y puede llegar a causar síndrome de mala absorción.

En el caso de la tricomoniosis esta es causada por el protozooario *Trichomonas vaginalis*. La infección se transmite sexualmente y algunas veces por contacto directo del recién nacido con la vagina infectada de la madre.

Para el tratamiento de estas parasitosis se ha empleado con éxito el metronidazol. Sin embargo; este fármaco causa reacciones colaterales como efectos mutagénicos y teratogénicos y de gran importancia es la falla terapéutica con este fármaco causada por desarrollo de resistencia de *G. lamblia* y *T. vaginalis*. Por lo

anterior existe la preocupación de encontrar nuevos fármacos para el tratamiento de las parasitosis causadas por estos protozoarios. Por tal motivo; el Departamento de Farmacia, de la Facultad de Química, UNAM se ha preocupado por diseñar y sintetizar análogos del albendazol; el cual es un compuesto bencimidazólico que también es efectivo contra los protozoarios mencionados. El presente estudio se enfoca particularmente a evaluar "*in vitro*" la actividad de nueve nuevos derivados bencimidazólicos contra trofozoítos de *G. lamblia* y *T. vaginalis* empleando el método de resiembra. A los resultados obtenidos se les aplica un análisis Probit, con la finalidad de obtener la CI_{50} (concentración que inhibe al 50% de los trofozoítos) para cada compuesto. En base a las CI_{50} calculadas se realiza una relación estructura-actividad de los nueve diferentes compuestos evaluados. La característica estructural general de los compuestos analizados es la modificación en las posiciones 5 ò 6 del anillo bencimidazólico, en algunas de estas moléculas se ha incluido un grupo metilo en posición 1 para evitar la formación de tautómeros y así poder evaluar por un lado si la actividad biológica se ve afectada con la inclusión del grupo metilo y con ello estudiar estructuras con sustituyentes definidos en posición 5 ò 6. En posición 2 todos los compuestos tienen un grupo trifluorometilo, el cuál en estudios previos se ha demostrado que confiere a la molécula gran actividad antiprotozoaria (Navarrete y cols. 2001).

II. GENERALIDADES DE LOS PROTOZOARIOS *Giardia lamblia* y *Trichomonas vaginalis*

A. *Giardia lamblia*.

Giardia lamblia fue descubierta en 1681 por Antonie van Leeuwenhook en sus propias heces (Wolfe 1992). Es un parásito protozoario binucleado flagelado que causa infecciones intestinales en mamíferos, aves, reptiles y anfibios (Adam 1991).

Aunque la giardiosis ha estado relacionada con agua contaminada, la vía fecal-oral es considerada como la mayor fuente de infección, particularmente en países donde el agua es tibia o se encuentran desagües de aguas negras cercanos a la comunidad y no cuentan con abastecimiento de agua.

1. Taxonomía

Reino	<i>Protozoo</i>
Phyllum	<i>Sarcomastigófora</i>
Subphyllum	<i>Mastigófora</i>
Clase	<i>Zoomastigófora</i>
Orden	<i>Diplomonadida</i>
Familia	<i>Hexamitidae</i>
Género	<i>Giardia</i>
Especie	<i>lamblia</i> (Meyer 1990).

2. Ciclo de vida

Giardia lamblia tiene como sinónimos *Giardia duodenalis* y *Giardia intestinalis* (Thompson 2000), alterna entre los estados de trofozoito y quiste (forma infectiva) durante su ciclo de vida.

2.1 Trofozoíto

El trofozoito de *G. lamblia* es aproximadamente de 10 a 12 μm de largo y 5 a 7 μm de ancho; figura 1.

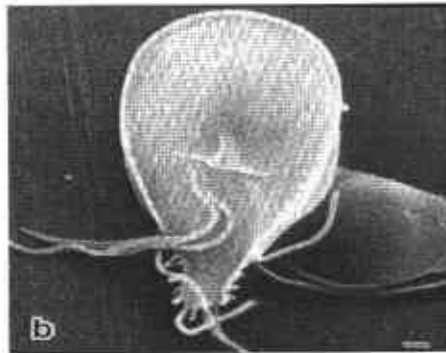


Fig.1 Trofozoito de *G. lamblia* (Cedillo y cols. 2002).

El citoesqueleto consiste de un cuerpo medio, una superficie cóncava, en las 2/3 partes de la superficie anterior, está el disco ventral y cuatro pares de flagelos. En el citoplasma se observan vacuolas, ribosomas, lisosomas, un aparato de Golgi, que solo ha sido reportado en trofozoítos enquistados. El trofozoíto tiene 2 núcleos idénticos, figura 2.

Flagelos. Los cuatro pares de flagelos (anterior, caudal, posterior y ventral) emergen del cuerpo basal cercano a la media línea y anteroventral al núcleo. Nueve pares de microtúbulos están simétricamente colocados alrededor de cada flagelo, con dos microtúbulos al centro.

Disco Ventral. El sitio de adhesión a la mucosa intestinal del huésped se realiza a través del disco ventral, es una estructura cóncava colocada en las 2/3 partes de la superficie ventral anterior del trofozoito. El disco es rígido y está hecho de microtúbulos, es cruzado perpendicularmente por unas estructuras llamadas microcintas. Los microtúbulos contienen tubulina y las microcintas contienen giardinas; éstas últimas son proteínas específicas de *Giardia* encontradas solamente en el disco ventral.

La adherencia a la mucosa depende del metabolismo y es inhibido por oxígeno, reducción de temperatura, reducción de concentración de cisteína y agentes farmacológicos con actividad contra *Giardia*, incluyendo metronidazol, furazolidona y los bencimidazoles tales como mebendazol y albendazol.

Cuerpo Medio. Los trofozoitos de *G. lamblia* usualmente contienen 2 medios cuerpos, su función es desconocida (Adam 1991).

Aparato de Golgi. Estudios en microscopía inmunoelectrónica han revelado que los antígenos específicos de la enquistación fueron localizados en el aparato de Golgi. Estos antígenos son transportados por vesículas específicas de enquistación para formar la pared del quiste.

Vacuolas. Los trofozoítos y los quistes contienen vacuolas ovoides de 0.1 a 0.4 μm de diámetro que son adyacentes al protoplasma.

Núcleos. Los dos núcleos de los trofozoítos de *G. lamblia* están simétricamente colocados en cada lado de la media línea. La membrana nuclear está parcialmente cubierta con ribosomas (Adam 1991).

El cultivo de los trofozoítos se realiza en medio TYI-S-33 que fue desarrollado para el cultivo axénico de *Entamoeba histolytica*. Este medio suplementado con bilis bovina es usado para aislamiento axénico y cultivo de *G. lamblia*, debido a que se encuentra en el intestino pequeño proximal de su huésped en un ambiente rico en bilis; por lo que se aconseja que algunas preparaciones de bilis cruda y sales biliares purificadas se añadan al medio TYI-S-33, mejorando el crecimiento del parásito. Actualmente, la versión modificada de TYI-S-33 usado para cultivar *G. lamblia* contienen bilis y además cisteína, suero bovino inactivado (56°C, 30 minutos) y pH de 7.2 (Keister 1983).

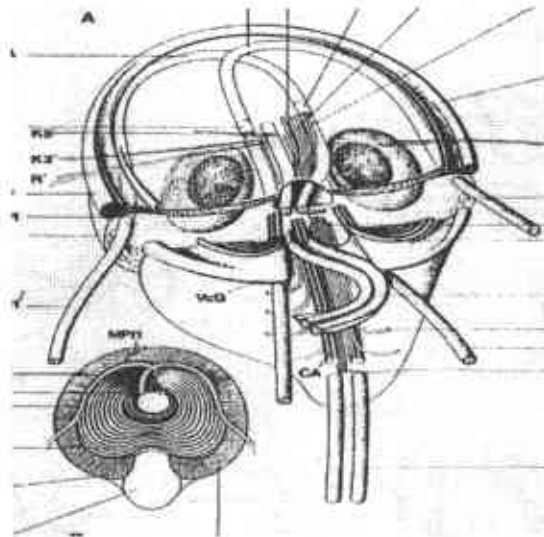


Fig.2 Estructura del Trofozoito de *G. lamblia* (Thompson y cols. 1994).

2.2 El quiste

El quiste es la forma infectiva de *Giardia*, es relativamente resistente al ambiente externo y al ácido gástrico del estómago del huésped infectado.

Dentro de la pared del quiste de *G. lamblia*, se encuentran los axonemas flagelados, vacuolas, ribosomas y fragmentos del disco ventral (Adam 1991).

El quiste maduro contiene 4 núcleos, usualmente uno al final del cuerpo medio y los axonemas lineales.

Los quistes pueden sobrevivir si se conservan en frío y humedad además se ha demostrado que sobreviven en agua por más de tres meses. También pueden sobrevivir en concentraciones estándar de cloro usadas normalmente en sistemas de purificación de agua.

Los quistes son ingeridos con agua y comida contaminada o son adquiridos de las manos sucias (Wolfe 1992), éstos se desenquistan en el duodeno después de pasar a través del ambiente ácido del estómago y da parte a la forma activa, el trofozoito, figura 3.

Los trofozoitos al encontrarse en la mucosa del duodeno o yeyuno y reproducirse por fisión binaria, son inducidos al enquistamiento en niveles bajos de colesterol (Upcroft y Upcroft 2001).

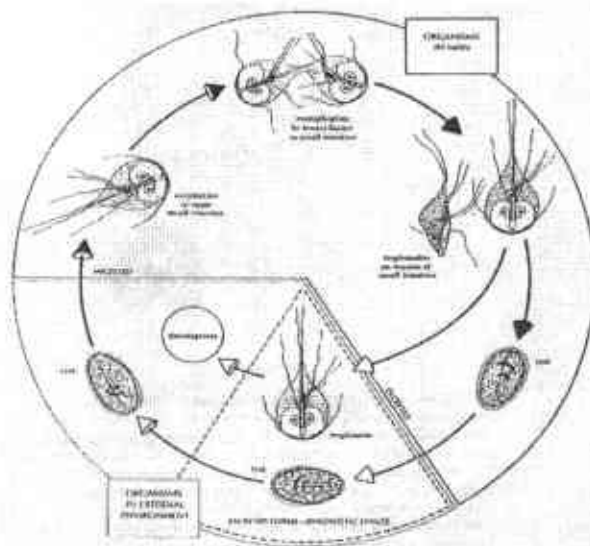


Fig 3 Ciclo de vida de *G. lamblia* (Thompson y cols. 1994).

3. Epidemiología

La giardiasis ocurre ampliamente en el mundo con mayor prevalencia donde la sanitización es pobre. Personas de todas las edades son afectadas, sin embargo; en áreas endémicas la infección es más frecuente en niños (Wolfe 1992).

En nuestro país, la población más afectada es la infantil, en la cual causa gran morbilidad con una incidencia de infección hasta de un 60% (Chester y cols.1988). Áreas específicas reconocidas incrementan el riesgo de los viajeros, entre ellos Rusia, sureste y sur de Asia, África Tropical, México y Sudamérica (Wolfe 1992).

Esta enfermedad se puede transmitir en forma directa por contacto feco-oral o por vía indirecta a través de agua o alimentos contaminados (Chester y cols. 1988). La transmisión también puede ocurrir entre hombres homosexuales por prácticas sexuales oral-anal (Wolfe 1992).

Factores del huésped tales como estado inmune, estado nutricional y edad, así como las diferencias de virulencia y patogenicidad de la cepa de *Giardia*, son reconocidas como determinantes importantes de la severidad de la infección. Sin embargo; se ha encontrado en estudios "in vivo" e "in vitro" entre aislados de *Giardia lamblia* en forma limitada diferencias fenotípicas tales como el crecimiento del parásito, la influencia del crecimiento del parásito sobre el hospedero y patogenicidad que determinan sean asintomáticos o sintomáticos (Homan y Mank 2001).

4. Características Clínicas

Las manifestaciones clínicas de giardiosis varían de una infección asintomática a una diarrea crónica con mala absorción (Adam 1991). En las infecciones asintomáticas, los estudios histológicos de mucosa duodenal y yeyunal no muestran anormalidad (Wolfe 1992).

Las infecciones sintomáticas difieren de persona a persona, dependiendo de factores tales como tamaño de inóculo, duración de la infección y el huésped, así como del parásito.

Los síntomas gastrointestinales incluyen calambres abdominales, náusea, disminución del apetito y ocasionalmente fiebre, especialmente en la parte temprana de la infección.

Manifestaciones extraintestinales han sido reportadas raramente en pacientes con giardiasis; cuando ocurren estas incluyen urticaria, artritis reactiva y retinitis, estas complicaciones son el resultado de la respuesta inmune a la infección (Adam 1991). Estos síntomas de giardiasis usualmente empiezan a las 3 semanas después de la ingestión de quistes (Gardner y Hill 2001).

El periodo de incubación varía de 9 a 15 días. El estado agudo usualmente empieza con un sentimiento de inquietud intestinal seguida por náusea, anorexia, bajos grados de fiebre y escalofríos. Los síntomas subsecuentes pueden incluir diarrea explosiva, laminosa, pestilente, flatulencia, vómito y un mal sabor. Aunque algunas infecciones agudas pueden ser claramente espontáneas, se puede desarrollar un intervalo de tiempo entre la infección aguda y la crónica, que puede ser de dos o más años de diarrea intermitente. Durante la fase crónica puede ocurrir dolor de cabeza, mialgia, continua pérdida de peso, anorexia y mala absorción.

Algunas infecciones desaparecen después de periodos variables de tiempo y alrededor del 13% y por encima del 50% de adultos y niños infectados respectivamente permanecen asintomáticos.

Durante la infección se presenta frecuentemente intolerancia a la lactosa, que puede persistir por periodos variables, seguido de aparente erradicación de giardiasis con tratamiento específico (Wolfe 1992).

El examen histológico revela trofozoítos en la superficie de la mucosa o células epiteliales. Los cambios patológicos son más significativos en pacientes inmunosuprimidos. La vellosidad intestinal puede variar de normal a marcadamente atrofiada, mala absorción de electrolitos e hiperplasia linfoide y comúnmente sobrecrecimiento bacterial; después del tratamiento la vellosidad y la mala absorción se resuelven pero la hiperplasia linfoide puede o no resolverse (Adam 1991).

5. Diagnóstico

La giardiosis puede estar considerada en el diagnóstico diferencial de algunos síndromes de diarrea. Por lo que debe llevarse a cabo un historial cuidadoso del cual pudieran sobresalir algunos factores de riesgo tales como, un viaje reciente, exposición al desierto o situaciones que involucran una escasa higiene feco-oral y esencialmente una examinación física ayudaran al diagnóstico. Una infección por *G. lamblia* puede distinguirse de una infección bacterial y viral por la larga duración de la enfermedad (7 a 10 días), por el tiempo en que se presenta así como la pérdida de peso (Gardner y Hill 2001).

La mayoría, pero no todos los casos de giardiosis pueden ser confirmados por examen de heces. Una serie de 3 heces, colectadas alternadamente dentro de 10 días sin exceder de este periodo.

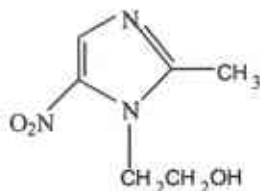
Si el organismo está presente, el estado de quiste es fácilmente observado en muestras de heces, particularmente cuando el paciente no tiene diarrea. Los quistes son redondos a ovales, con cuatro núcleos, cuerpos medios y axonemas lineales. A menos que el paciente tenga diarrea aguda, es poco común ver el estado de trofozoito en las heces. Los trofozoítos son descritos como forma de lagrima del frente y curvados de lado, pueden observarse si la luz es demasiado brillante en una preparación directa húmeda. Si se dejan por mucho tiempo, el organismo tiende a desintegrarse, por lo que se evitaría el reconocimiento de la morfología típica del trofozoito (Wolfe 1992).

Dado que en algunos pacientes con diarrea crónica, el examen en heces es negativo a la presencia del parásito, el diagnóstico de giardiosis puede ser establecido por examen de contenido duodenal (Adam 1991).

6. Tratamiento

Para el tratamiento de la giardiosis se utilizan principalmente los nitroimidazoles y recientemente bencimidazoles (Ponce y cols. 2001).

El metronidazol se da en dosis de 250mg 3 veces al día por 7 días para adultos y 5mg/kg 3 veces al día por 7 días para los niños.



METRONIDAZOL

Indicaciones Terapéuticas. Tratamiento o prevención de septicemia, bacteriemia, infecciones intraabdominales postoperatorias, absceso pélvico, celulitis pélvica, tromboflebitis séptica, sepsis puerperal y en otras infecciones en las que se han identificado bacterias anaerobias o en las que se sospecha su poder patógeno, especialmente el *bacterioide fragilis* y melaninogénico, así como otras especies no bacteroides tales como: *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, *Clostridium*, *Peptococos* y *Peptostreptococo* (Vademécum) y para el tratamiento contra *T. vaginalis* (Sears y O'Hare 1988).

Farmacocinética y Farmacodinamia: El metronidazol se absorbe rápidamente después de su administración oral y su biodisponibilidad es aproximadamente del 100%. Concentraciones plasmáticas de 5 y 10 µg/ml se alcanzan en un promedio de una hora después de dosis única de 250 y 500 mg, respectivamente. Existe alguna acumulación y consecuentemente concentraciones más altas se han presentado cuando se administran dosis múltiples. Las concentraciones pueden variar según el tipo de determinación empleado.

El metronidazol se distribuye fácilmente, aparece en la mayor parte de líquidos y tejidos corporales, incluyendo: bilis, hueso, leche materna, abscesos cerebrales, líquido cefalorraquídeo, hígado y abscesos hepáticos, saliva, líquido seminal y secreciones vaginales, alcanzando concentraciones similares a las plasmáticas. Cruza la barrera placentaria y entra rápidamente a la circulación fetal. No más de 20% se encuentra unida a proteínas plasmáticas. El metronidazol es metabolizado en el hígado por cadenas laterales de oxidación y forma glucoronidos.

Los principales metabolitos oxidativos son: 1-(2-hidroxi)etil-2-hidroximetil-5-nitroimidazol (el metabolito hidroxilado) el cual tiene actividad antibacteriana, es detectado en plasma y orina, y el ácido acético-2-metil-5-nitroimidazol (el metabolito ácido), no tiene actividad antibacteriana y no es frecuente que se detecte en plasma, pero es excretado en orina. Pequeñas cantidades de metabolitos reducidos, acetamidas y ácido *N*-(2-hidroxi)etil oxámico han sido detectados en orina y probablemente están formados por la flora intestinal. La vida media de eliminación plasmática es de 8 horas; el metabolito hidroxilado, la tiene más alta. La vida media del metronidazol en neonatos y pacientes con daño hepático severo, se ha reportado que es más grande; la del metabolito hidroxilado, está prolongada en pacientes con insuficiencia renal.

La mayoría de la dosis del metronidazol es excretada en orina, principalmente como metabolitos; en heces fecales aparecen pequeñas cantidades. Dependiendo del método usado, más del 80% de la dosis se recupera en la orina dentro de las primeras 48 horas.

Mecanismo de acción: La acción selectiva del metronidazol contra organismos anaerobios se debe a su reducción preferencial del grupo 5-nitro del fármaco original por estos organismos, presumiblemente por un sistema análogo al de la ferredoxina. Un ambiente anaerobio se requiere para que se lleve a cabo la reducción. La vida corta activa de los productos intermedios formados, subsecuentemente interactúa con el ADN bacteriano y quizá con otras macromoléculas.

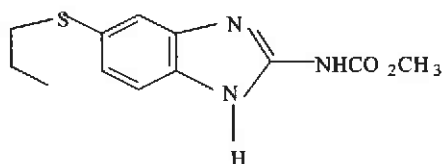
Reacciones secundarias y adversas: Trastornos gastrointestinales (gastritis, náuseas, vómito), cefalea y rash cutáneo transitorio, muy ocasionalmente y a dosis elevadas lengua saburral, vértigo, depresión, insomnio, somnolencia, molestia uretral y oscurecimiento de la orina. Todos estos síntomas desaparecen al terminar el tratamiento.

Precauciones y relación con efectos de carcinogenesis, mutagenesis, teratogenesis y sobre la fertilidad: El metronidazol es mutagénico en algunas cepas bacterianas. Se han inducido tumores en ratas y ratones administrándoles metronidazol en forma crónica. Sin embargo, una revisión de la evidencia disponible hecha en 1983, por Roe, concluyó que el metronidazol puede ser usado sin temor de riesgos carcinogénicos o mutagénicos y que aparentemente está libre de potencial teratogénico (Vademécum).

Otros fármacos contra *G. lamblia* incluyen quinacrina y más recientemente, los bencimidazoles como albendazol y mebendazol, se han sugerido como alternativa a los 5-nitroimidazoles. Estos fármacos son más potentes "in vitro" contra *G. lamblia* que el metronidazol y son similarmente efectivas "in vivo" (Upcroft y Upcroft 1993).

La dosis en adultos es usualmente de 400mg por día durante 5 días para el albendazol y 200 a 400mg por día durante 5 o 10 días para mebendazol. La dosis usual en niños es 15mg/kg por día durante 5 o 7 días. Ambas drogas se encuentran disponibles en suspensión. Una ventaja del uso del albendazol en niños es su eficacia contra algunos helmintos, lo cual permite un tratamiento efectivo de múltiples parásitos intestinales. Otra ventaja es la falta de efectos colaterales (Gardner y Hill 2001).

Estudios "in vitro", han mostrado que los trofozoítos de *Giardia lamblia*, después de 12 horas de incubación con pequeñas concentraciones de albendazol, pierden adhesión y aproximadamente el 75% de las células se separan de la pared de los tubos de cultivo y a las 24 horas de incubación, los trofozoítos pierden su forma característica y la viabilidad es severamente afectada (Chavez y cols. 1992).



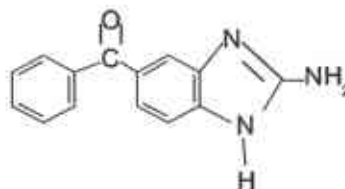
ALBENDAZOL

Indicaciones Terapéuticas: Antihelmíntico polivalente efectivo en el tratamiento contra: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichura*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Himenolepsis nana*, *Taenia spp*, *Strongyloides stercoralis* (Vademécum) y *G. lamblia* (Cedillo y Muñoz 1988).

Farmacocinética y Farmacodinamia: Después de la administración oral, el albendazol es absorbido en poca cantidad (menos de 5%). A la dosis de 6.6 mg/kg de albendazol, la concentración en plasma de su principal metabolito, el sulfóxido de albendazol alcanza un máximo de 0.25 a 0.30 mg/ml después de aproximadamente 2 horas, su vida media en el plasma es de aproximadamente 8.5 horas. El metabolito es esencialmente eliminado por la orina. El albendazol ejerce su efecto antihelmíntico inhibiendo la polimerización de la tubulina, y por lo tanto, depleta los niveles energéticos hasta que éstos llegan a ser insuficientes para la sobrevivencia de los parásitos. De este modo el albendazol inicialmente inmoviliza y después mata a los helmintos susceptibles.

Reacciones Secundarias y Adversas: Se han reportado casos de alteraciones gastrointestinales como dolor abdominal, náuseas, vómito, mareos y cefalea, aun que no se ha demostrado una relación definitiva con el fármaco.

Precauciones y relación con efecto de carcinogenesis, mutagenesis, teratogenesis y sobre la fertilidad: Fue negativa la evidencia de mutagénesis y genotoxicidad en pruebas "in vitro" e "in vivo". En estudios de toxicidad a largo plazo efectuados en ratas y ratones con dosis diarias por arriba de 30 veces las dosis recomendadas para el humano, no se observó formación tumoral relacionada con el tratamiento.



MEBENDAZOL

Indicaciones terapéuticas: Tiene un amplio espectro de actividad antihelmíntica. Es el medicamento de elección para la trichuriasis, se puede usar en infestaciones mixtas por nemátodos intestinales y en el tratamiento de las infestaciones por *Ascaris*, *Uncinarias* y *Oxiuros*.

Farmacocinética y farmacodinamia en humanos: El mebendazol, un derivado del carbamato de bencimidazol, es el antihelmíntico con mayor actividad sobre los nemátodos, interfiere con la captación (o la inhibe) de glucosa exógena por los

nemátodos, conduciendo al agotamiento del glucógeno y a la disminución de la generación de ATP requerida (Vademécum).

Contraindicaciones: Hipersensibilidad al principio activo. El medicamento está contraindicado en las mujeres embarazadas y en lactancia. Se debe usar con precaución en niños menores de 2 años.

Precauciones o restricciones de uso durante el embarazo o lactancia: Es teratogénico en ratas, su uso no se recomienda durante el embarazo en humanos. La lactación cesa en las madres lactantes después de administrar mebendazol en una infección por nemátodos.

Reacciones secundarias y adversas: Disturbios gastrointestinales tales como diarrea y dolor abdominal transitorio con dosis terapéuticas. Sin embargo; se reportan reacciones alérgicas, elevación de los valores enzimáticos del hígado, leucopenia y alopecia cuando se usan dosis más altas, como en el tratamiento de la enfermedad hidática.

Actualmente se ha demostrado que un derivado tiazol (nitazoxanida), también es potente contra *Giardia lamblia* en mayor proporción que el albendazol y metronidazol (Cedillo y cols. 2002).

7. Prevención

El tratamiento convencional en plantas de agua que emplean métodos de coagulación, sedimentación, filtración son necesarios para prevenir epidemias de giardiosis.

Mientras solamente la cloración es frecuentemente efectiva matando a la mayoría de los organismos entéricos, los quistes de *Giardia* pueden requerir concentraciones más altas de cloro y mayor tiempo de contacto para ser inactivados, particularmente en agua fría. Para protección individual, se aconseja hervir el agua por un minuto, con la finalidad de destruir los quistes de *Giardia*. Si hervirla no es posible, añadir 0.5ml de tintura de yodo al 2% por cada litro de agua, dejándola toda la noche lo que es recomendable especialmente si el agua está fría. Cocinar y comer los alimentos calientes ayuda a prevenir la ingestión de quistes viables presentes en comida contaminada por agua o dedos infectados (Wolfe 1992).

B. Trichomonas vaginalis

Trichomonas vaginalis es un protozoo parásito que causa la tricomoniasis, una enfermedad transmitida sexualmente de gran importancia a nivel mundial (Petrin y cols. 1998).

Donne (1836) fue el primero que observó “animalículos en los materiales purulentos y en los productos de secreción de los órganos genitales del hombre y de la mujer” y al año siguiente les dio el nombre de *vaginalis*, para los cuales creó el género *Trichomonas* (Chester y cols. 1988).

1. Taxonomía

Reino	<i>Protozoo</i>
Phyllum	<i>Sarcomastigofora</i>
Subphyllum	<i>Mastigophora</i>
Clase	<i>Zoomastigofora</i>
Orden	<i>Trichomonadida</i>
Familia	<i>Trichomonadidae</i>
Genero	<i>Trichomonas</i>
Especie	<i>vaginalis</i> (Bainés 1986).

2. Morfología

T. vaginalis varía en tamaño y forma con un promedio de largo de 10 μ m y de ancho 7 μ m; figura 4. Las condiciones fisicoquímicas alteran la apariencia del parásito. En un cultivo axénico, la forma del protozoario tiende a ser más uniforme; por ejemplo forma oval o de pera, pero el parásito toma una apariencia más ameboide para atacar el epitelio celular de la vagina (Petrin y cols.1998).

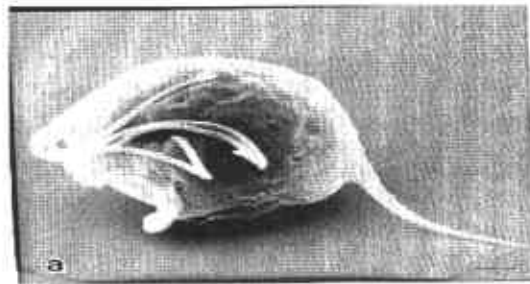


Fig.4 Trofozoíto de *Trichomonas vaginalis* (Cedillo y cols. 2002).

Este protozoario contiene un remarcado citoesqueleto que contiene microtúbulos y se encuentra organizado en diferentes estructuras, como los cuerpos basales en lugar de centriolos y se divide por una mitosis extranuclear. En ausencia de centriolos, la función de los cuerpos basales es como de raíces flagelares. Los flagelos no son necesarios para la mitosis en la mayoría de los organismos, pero los centriolos, cuerpos basales o centrosomas si son necesarios (Zuo y cols.1999). El parásito posee 5 flagelos, 4 de los cuales están colocados en su porción anterior (Petrin y cols. 1998). *T. vaginalis* muestra asociaciones físicas entre los cuerpos basales flagelares y husos polares (Zuo y cols. 1999). El flagelo y la membrana

ondulante dan al parásito la característica de movilidad vibrante. Bajo condiciones no favorables de crecimiento, *T. vaginalis* puede recoger e internalizar el flagelo.

El núcleo en *T. vaginalis* esta localizado en su porción anterior y esta rodeado por una cubierta nuclear porosa. Un axóstilo delgado hialino que comienza en el núcleo y bisecta longitudinalmente el protozoario. Esto hace destacar la parte posterior final del parásito terminando en una punta afilada. Se piensa que esta estructura fija el parásito al epitelio de la vagina. Hay 2 juegos de gránulos paracostal y paraxostilar. El último esta ordenado a lo largo del axostilo en 3 filas paralelas, lo cual es la característica distintiva de *T. vaginalis*. Gránulos de glucógeno también se encuentran presentes, muestra actividad hidrolasa y contiene lisosomas tanto como fagosomas (Petrin y cols. 1998).

Este protozoario no tiene mitocondria pero posee hidrogenosomas que podrían ser parte de un ancestro común de la mitocondria (Zuo y cols. 1999).

3. Ciclo de vida

Solo existe el estado de trofozoíto. Cuando se observan diversas formas redondas de gran tamaño, se conoce que el parásito esta en división. En fase de crecimiento, estas formas están sin flagelos, durante la división con flagelos y núcleos, por último con flagelos y múltiples núcleos (Petrin y cols. 1998).

Este organismo sobrevive en conjunto con el huésped, células y otros miembros de la flora microbiológica, por lo que fue inicialmente difícil para cultivar

independiente de bacterias. Actualmente, el cultivo axénico es obtenido a través del uso de antibióticos.

T. vaginalis es un parásito obligado ya que le falta la habilidad para sintetizar algunas macromoléculas de novo, particularmente purinas, pirimidinas y algunos lípidos. Estos nutrientes son adquiridos de secreciones vaginales o a través de fagocitosis del huésped y células bacterianas. Por lo que el medio de cultivo para *T. vaginalis*, debe incluir macromoléculas, vitaminas y minerales. En particular, el suero es esencial para el crecimiento de las *Trichomonas* así como lípidos, ácidos grasos, aminoácidos y trazas de metales. El hierro es también requerido para mantener niveles máximos de ferredoxina y la actividad piruvato-ferredoxina oxirreductasa.

El medio más popular para *T. vaginalis* es el de Diamond TYI-S-33, el cual contiene tripticasa, extracto de levadura y hierro con la adición de suero fetal bovino y vitaminas 107-Tween.

T. vaginalis "in vitro" crece óptimamente a pH de 6.0 a 6.3, aunque también crece en un intervalo amplio de pH's, especialmente en el que se encuentra la vagina (Petrin y cols. 1998).

4. Epidemiología

La Organización Mundial de la Salud ha estimado que 180 millones de infecciones son adquiridas en todo el mundo.

T. vaginalis ha sido aislada de 14 a 60% de parejas heterosexuales infectadas y 67 a 100% de parejas de homosexuales infectados. Por encima del 58% de hombres jóvenes están en riesgo de transmitir enfermedades sexuales (Upcroft y Upcroft 2001).

La tricomoniosis tiene una distribución cosmopolita y ha sido identificada en todos los grupos raciales y estratos socioeconómicos. Los humanos son el único huésped natural de *T. vaginalis*. El trofozoito es transmitido sexualmente de una persona a otra. Es observado más frecuentemente en mujeres atendidas por enfermedades transmitidas sexualmente así como en mujeres prostitutas, a diferencia de mujeres postmenopáusicas y vírgenes. Finalmente los flagelados mueren fuera del cuerpo humano a menos que estén protegidos de la sequedad.

La transmisión no sexual ha sido observada en casos como contaminación por ducha y toallas de baño; de esa manera las *Trichomonas* pueden encontrarse dentro de la vagina. Sin embargo; estos casos son raros. *T. vaginalis* ha sido encontrada en orina, semen y en agua de alberca.

Los recién nacidos de madres infectadas por *T. vaginalis* tienen la posibilidad de adquirir la infección en tracto urinario o vagina. Del 2 a 7% de los neonatos han adquirido a este parásito.

5. Características clínicas.

La infección una vez establecida, persiste por varios periodos en las mujeres; pero sólo por un corto tiempo en hombres. El periodo de incubación es de 4 a 28 días en alrededor del 50% de individuos infectados. De acuerdo con la infección, la tricomoniosis puede ser clasificada como aguda, crónica o asintomática (Petrin y cols. 1998).

El cuadro clínico en la infección aguda revela vulvitis difusa a una copiosa leucorrea. La descarga es típicamente espumosa, amarilla o verde y mucopurulenta. Pequeñas manchas pueden encontrarse en la mucosa cervical y en la vagina. Esta apariencia moteada se refiere como una apariencia de fresa y es observada en sólo un 2% de pacientes. Estos signos y síntomas empeoran en meses.

En la infección crónica, los síntomas predominantes son ligeros con prurito, mientras que la secreción vaginal puede ser muy limitada y mezclada con moco. Esta forma de la enfermedad es particularmente importante desde el punto de vista epidemiológico, porque esos individuos son la mayor fuente de transmisión del parásito.

Por encima del 25% a 50% de mujeres infectadas son asintomáticas, tienen un pH normal en la vagina de 3.8 a 4.2 y una flora vaginal normal.

Otras complicaciones asociadas con tricomoniosis incluye endometritis, infertilidad, bajo peso al nacer y erosión cervical. La tricomoniosis esta también asociada con incremento de transmisión en VIH.

La tricomoniosis urogenital en hombres puede ser categorizado dentro de 3 grupos:

1. Un estado asintomático, identificado por contacto sexual de mujeres infectadas.
2. Un estado agudo caracterizado por uretritis purulenta y profusa.
3. Ligera enfermedad sintomática. La cual es indistinguible clínicamente de otras causas de uretritis (Petrin y cols. 1998).

La duración de la infección es de 10 días o menos en la mayoría de los pacientes masculinos.

6. Diagnóstico

El diagnóstico clínico debe plantearse en pacientes del sexo femenino con leucorrea, prurito en órganos genitales, hiperemia y lesiones punteadas en vagina, cuya edad y hábitos higiénicos sugieran tricomoniosis.

El modo de elección para confirmar la parasitosis consiste en el estudio microscópico de las secreciones vaginales para demostrar al flagelado moviéndose activamente, mediante un examen directo en fresco, que deberá tomarse de

preferencia en la mañana y antes del aseo vaginal. En el hombre mediante obtención de la primera secreción proveniente de la uretra o por masaje prostático.

El parásito es abundante en los casos agudos y escaso en los crónicos o latentes. Cuando la investigación se haga en orina, esta deberá centrifugarse y hacer tinción del sedimento (Petrin y cols. 1998).

7. Tratamiento

El fármaco más efectivo para el tratamiento de *T. vaginalis* es metronidazol, el tratamiento estándar de tricomoniosis es 250 mg de metronidazol, oralmente tres veces al día durante siete días o dosis única de 2g. Pero por sus efectos carcinogénicos y teratogénicos, mencionados en el tratamiento para la giardiosis, se han buscado terapias alternativas (Sears y O'Hare 1988); como los bencimidazoles carbamatos tales como el albendazol, mebendazol, flubendazol y fenbendazol que inhiben "*in vitro*" el crecimiento de *T. vaginalis* (Valdez y cols. 2002).

Un tratamiento complementario recomendable consiste de duchas vaginales con soluciones ácidas cuyo propósito es crear un medio con pH ácido, desfavorable para el protozoo.

El tratamiento de la tricomoniosis en el hombre consiste en la utilización de imidazoles a dosis más bajas que en la mujer (Chester y Clifton 1988).

La presencia de falla terapéutica del metronidazol se ha explicado por la aparición de resistencia a este fármaco.

Al igual que con *Giardia* también se ha demostrado que la nitazoxanida exhibe actividad similar al metronidazol en *T. vaginalis* (Cedillo y cols. 2002).

8. Prevención

La higiene personal de la mujer, el uso de preservativos, así como la detección y quimioterapia específica de la infección en el hombre pueden reducir la prevalencia del padecimiento, así como el tratamiento de la pareja sexualmente activa, cuando se detecta a este parásito en uno de ellos (Chester y Clifton 1988).

C. Fármacos del grupo de los bencimidazoles para el tratamiento de giardiosis y tricomoniosis.

El descubrimiento hecho por Brown y colaboradores en 1961, de que el tiabendazol poseía actividad potente contra nematodos gastrointestinales fue el punto de partida para obtener bencimidazoles de amplio espectro contra parásitos de importancia en la medicina veterinaria y clínica (Goodman 1996).

Bencimidazol como su nombre lo implica es un sistema de anillos bicíclicos en el cual el benceno ha sido fusionado a la posición 4 y 5 del heterociclo; figura 5. Los componentes bencimidazólicos en general y bencimidazoles carbamatos en particular, son materiales cristalinos y son relativamente insolubles en agua (Townsend y Wise 1990).

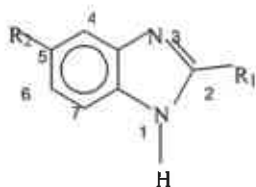


Fig.5 Estructura general de los bencimidazoles (Goodman 1996).

1. Farmacología de los bencimidazoles

El modo de acción *"in vivo"* de los bencimidazoles se caracteriza por:

- a) Las dosis requeridas para lograr la eficacia contra nematodos son más bajas que las usadas para el control de cestodos y trematodos.
- b) Los parásitos extraintestinales particularmente intravasculares y parásitos intersticiales son menos sensibles que los parásitos gastrointestinales.

Los principios farmacológicos importantes relacionados con el huésped son:

- 1) Toxicidad baja en el huésped a dosis antihelmínticas.

2) La eficacia de la dosis de bencimidazoles son dependientes del huésped.

3) El camino y proporción del metabolismo de cada bencimidazol es similar para todos los huéspedes. El metabolismo de primer paso por enzimas solubles en hígado (reductasas y oxidasas) constituyen un rápido camino de desactivación de algunos bencimidazoles notablemente mebendazol, fenbendazol y albendazol.

4) A pesar de los reportes de pobre absorción sistémica de bencimidazoles después de la administración oral "*in vivo*" (más notable mebendazol) algunos datos sugieren mayor de 50% de absorción. La reducción de biodisponibilidad fue inicialmente asumida a la ausencia de datos de excreción biliar. Dentro de las clases de bencimidazoles la excreción biliar es favorecida por mebendazol, febendazol, mientras predominantemente la excreción urinaria es observada por tiabendazol (Lacey 1988). El albendazol que tiene un azufre en la cadena lateral del anillo bencimidazolico tiene un mayor efecto en el metabolismo que es caracterizado por la oxidación del heteroatomo nucleofílico; figura 6. El metabolito sulfóxido, que es formado en el hígado (Gardner y Hill), predomina en el plasma y también se encuentra en la orina, la proporción depende de la especie (Gottschall y cols.1990).

5. Los bencimidazoles son hidrofóbicos e insolubles en agua y por lo tanto la biodisponibilidad puede ser alterada por formulación y presentación.

El modo de acción de los bencimidazoles "*in vitro*" se caracteriza por:

1. El huésped no juega un papel importante en la actividad intrínseca del fármaco.
2. El sitio de acción es un vital componente de la viabilidad del ciclo de vida del parásito usado en la técnica "*in vitro*".
3. La biodisponibilidad del fármaco es comparable con situaciones "*in vivo*" (Lacey 1988).

2. Mecanismo de acción

Los bencimidazoles ocasionan muchos cambios bioquímicos en nematodos sensibles, por ejemplo; inhibición de la fumarato reductasa de mitocondrias, disminución del transporte de glucosa y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (Goodman 1996). Sin embargo; se ha demostrado la selectividad de unión de los bencimidazoles a la tubulina de helmintos y mamíferos por lo cual se ha aceptado también la tubulina como sitio de acción (Lacey 1990), inhibiendo su polimerización y por lo tanto la formación de microtúbulos.

El microtúbulo es un organelo vacío tubular en un diámetro entre 15nm y 25nm, de largo variable y transitorio; está comprendido de una serie de protofilamentos, esta característica es dependiente de las especies y condiciones "*in vitro*" (Lacey 1990).

Distintas funciones se encuentran relacionadas con los microtúbulos a nivel celular como:

- i) formación del uso mitótico
- ii) movilidad celular
- iii) mantenimiento de forma celular
- iv) secreción celular
- v) absorción de nutrientes y
- vi) transporte intracelular (Lacey 1988).

Inicialmente, la susceptibilidad a los bencimidazoles parecía estar limitada a helmintos y hongos. Sin embargo; en 1985 se reportó la inhibición del crecimiento "*in vitro*" de *T. vaginalis* por derivados del mebendazol y flubendazol, donde observaron efectos sobre la morfología y el índice mitótico, lo que sustenta la noción de que el blanco de esos fármacos son los microtúbulos (Katiyar y cols. 1994).

También se ha reportado alta actividad de los bencimidazoles principalmente albendazol y mebendazol "*in vitro*" contra *G. lamblia* (Cedillo y cols. 1988) que contiene un citoesqueleto prominente de microtúbulos; entre los efectos que se han observado se encuentran la pérdida de su forma típica de pera y fragmentación del disco ventral (Chavez y cols. 1992).

Debido al desarrollo de resistencia de los parásitos al metronidazol y a los efectos colaterales nocivos que ocasiona este medicamento lleva a la búsqueda de nuevos agentes contra parásitos anaerobios como: *G. lamblia* y *T. vaginalis* y por tanto a la

reevaluación de los bencimidazoles como agentes antiprotozoarios resulta de gran interés.

3. Modificaciones estructurales en los bencimidazoles.

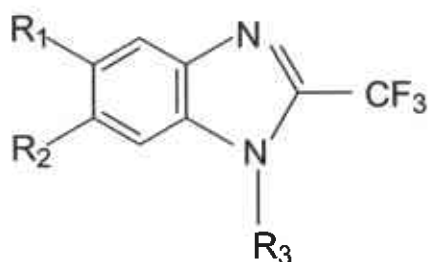
Químicamente el núcleo bencimidazólico es una molécula estable, la cual puede pasar por un plano electrofílico, nucleofílico y reacciones de ciclocondensación (Sharma 1997).

La ruta de síntesis de varios bencimidazoles usualmente procede a través de pasos, primero la construcción de un anillo de benceno conteniendo los sustituyentes deseados y un grupo de 1,2-diamina, seguido por el cierre del anillo de *o*-fenilendiamina reactivo empleado para construir el anillo imidazólico.

Las modificaciones estructurales realizadas en los bencimidazoles para generar mejores antihelmínticos, se han enfocado en las posiciones 2 y 5 de la molécula ya que estos cambios han provisto la mayor actividad de los fármacos (Towsend y Wise 1990).

Parece que la presencia de un átomo de hidrógeno en la posición 1 del anillo bencimidazólico es esencial para una buena actividad antihelmíntica; por lo que intentar preparar bencimidazoles 1-sustituídos, lleva a obtener compuestos con baja o nula actividad biológica (Sharma 1997). Sin embargo; existen también reportes de la actividad antiprotozoaria de derivados del 2-trifluorometilbencimidazol (tabla 1), donde algunos de ellos tienen en posición 1 un átomo de hidrógeno y otros un grupo metilo y en posiciones 5 y 6 tienen ya sea un átomo de hidrógeno o un cloro o a la inversa.

Los ensayos biológicos realizados con estos compuestos indican que la mayoría de ellos fueron más activos contra *G. lamblia* que el metronidazol y uno de ellos con -CH₃ en posición 1, un átomo de cloro en 5 y un hidrógeno en 6 resultó ser más activo que el albendazol. Estos compuestos también se evaluaron contra *E. histolytica* donde todos los compuestos resultaron ser más activos que el metronidazol y el albendazol; tabla 1.



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	<i>G. lamblia</i>	<i>E. histolytica</i>
				IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
16	H	H	H	0.107	0.069
17	Cl	H	H	1.282	0.022
18	Cl	Cl	H	0.078	0.011
19	H	H	CH ₃	0.064	0.040
20	Cl	H	CH ₃	0.042	0.046
21	H	Cl	CH ₃	0.127	0.008
22	Cl	Cl	CH ₃	0.260	0.033

Tabla 1 Susceptibilidad "in vitro" de *G. lamblia* y *E. histolytica* a derivados 2-trifluorometilbencimidazoles, Metronidazol y Albendazol (Navarrete y cols. 2001).

Estos resultados sustentan la idea de que uno de los requerimientos de la acción sobre la tubulina de los 5(6) bencimidazoles sustituidos, es la presencia de adición de un átomo de hidrógeno en posición 1 y un metoxicarbonilamino en la posición 2. Sin embargo; los compuestos que tenían un hidrógeno en posición 1 pero no tienen un metoxicarbonilamino en la posición 2 y otros compuestos que no llevan algunos de los radicales mencionados en esas posiciones fueron igual de efectivos contra *G. lamblia*. Estos hechos sugieren que el mecanismo de acción de los bencimidazol carbamatos es diferente al de los compuestos mencionados. Lo que significaría que los hidrógenos en las posiciones 1 y 2 son importantes para la unión de los bencimidazoles a la tubulina pero no para el efecto antiparasitario (Navarrete y cols. 2001).

La naturaleza de los sustituyentes presentes en posición 2 de un 5(6)-bencimidazol sustituido juega un papel importante en la respuesta biológica, por lo que se han realizado una gran variedad de modificaciones estructurales en esta posición. Entre estos se pueden citar con marcada actividad antihelmíntica, los 4,5,6,7-tetracloro-2-trifluorometilbencimidazol y 4,5,6-tricloro-7-(dietilsulfamoil)-2-trifluorometilbencimidazol.

La presencia de un farmacóforo en la posición 5(6) de bencimidazoles 2-sustituidos es un factor importante para determinar la actividad biológica de los componentes de esa clase. Estos sustituyentes en esta posición no sólo evitan que la molécula fácilmente se hidroxile en posición 5 para formar metabolitos débilmente activos o inactivos pero también ayuda en generar la respuesta terapéutica contra helmintos entéricos y permanecer en el tejido (Sharma 1997).

Algunos ejemplos de estas modificaciones en la estructura básica de los bencimidazoles son las siguientes:

En posición 2 se incluyen grupos como SH, SCH₃ y NH₂ y en posición 5 un átomo de hidrógeno o cloro; estos compuestos se evaluaron en *G. lamblia* y se observó actividad biológica igual al albendazol y por lo tanto mejor que el metronidazol (Valdez y cols. 2002).

Los metilbencimidazoles, monoclorados en posición 6 y con sustituyente amino o metilo en posición 2, han mostrado ser efectivos también contra *G. lamblia* a concentraciones inhibitorias menores que las del albendazol y metronidazol; de estos compuestos se observó por microscopía electrónica y de barrido que causan daño importante en la membrana del trofozoíto de *G. lamblia* (Valdez y cols. 2002).

Todos los compuestos mencionados también se han evaluado con *T. spiralis*, siendo menos exitosos los metilbencimidazoles y con mejor actividad los H-bencimidazoles y de estos también se ha reportado buena actividad contra *amoeba* (Valdez y cols. 2002).

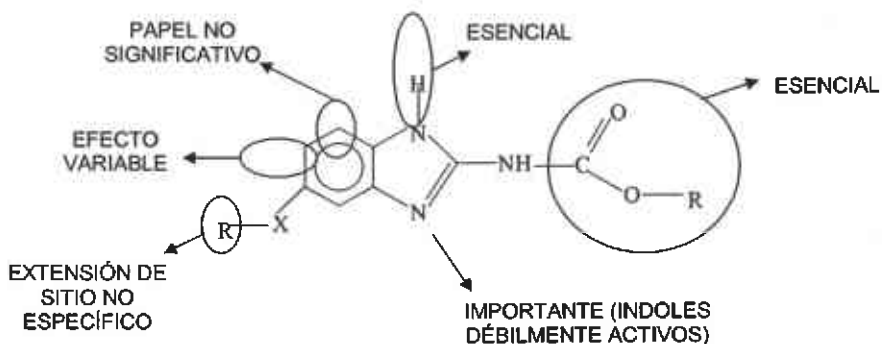


Fig. 7 Requisitos estructurales para una actividad inhibitoria microtubular óptima de los bencimidazoles carbamatos (Lacey 1988).

4. Relaciones estructura-actividad (QSAR).

Una relación estructura-actividad se establece cuando un conjunto de propiedades de una serie de compuestos explica su actividad o respuesta biológica.

La expresión de la actividad puede referirse en términos de si existe o no una respuesta biológica o en términos de la dosis requerida para obtener dicha respuesta. De acuerdo con esto, existen dos tipos de datos biológicos, los que determinan la dosis para una respuesta fija o los que determinan la respuesta para una dosis fija. Los más adecuados para establecer las relaciones estructura-actividad son los primeros, y entre ellos se encuentran los parámetros DE_{50} y DL_{50} (dosis eficaz cincuenta y dosis letal cincuenta) que indican la dosis que se requiere para alcanzar el 50 por 100 de la respuesta máxima en términos de eficacia o mortalidad.

Puede aceptarse que la respuesta biológica de un determinado compuesto es función de tres factores: fisicoquímicos, estructurales y teóricos, pudiendo a su vez, los fisicoquímicos dividirse en otros tres: electrónicos, estéricos e hidrófobos

Fue Corwin Hansch en 1963 el primero que desarrolló con éxito el análisis cuantitativo de las relaciones estructura-actividad (QSAR); con el fin de diseñar fármacos con actividad óptima, estudiar el mecanismo de acción y predecir la actividad de compuestos estructuralmente afines. Las relaciones estructura actividad han sido también utilizadas para establecer que propiedades físicas comunes a compuestos estructuralmente diferentes son responsables de un efecto biológico idéntico y proponer mecanismos de acción (Avendaño 1993).

Algunas de tales propiedades son la solubilidad, el coeficiente de reparto, el grado de ionización, la tensión superficial, la isosteria, las fuerzas intermoleculares, los potenciales de oxidación-reducción, las distancias interatómicas entre los grupos funcionales y la estereoquímica (Avendaño 1993).

Existen programas de ordenador que determinan la función de onda de un sistema molecular con distintos niveles de aproximación, a partir de la geometría de los núcleos que componen el sistema, entre ellos; el programa Spartan permite construir moléculas y ejecutar sobre ellas cálculos moleculares para obtener una serie de propiedades, como energías, geometrías, frecuencias de vibración, orbitales moleculares, mapas de potencial electrostático, entre otras; y lo más importante, se pueden visualizar de forma fácil muchos de estos resultados. Estos mismos programas suministran información útil que puede ser incluida en estudios QSAR, como las cargas efectivas sobre los átomos y las energías de los orbitales moleculares HOMO y LUMO (que corresponden al orbital molecular ocupado con más energía y al vacío de menos energía, respectivamente). Estos orbitales intervienen en la donación de un electrón (HOMO) y la captura del mismo (LUMO), es decir, están relacionados con el potencial de ionización y la afinidad electrónica. El coeficiente de reparto se define simplemente como la razón de concentraciones de una especie única entre dos fases de equilibrio, C_2/C_1 , donde por convención la fase 1 es el agua. La fase 2 suele ser octanol u otro hidrocarburo no miscible con agua. La electronegatividad, que se define como la habilidad de un átomo para atraer hacia sí los electrones de un enlace químico. La masa molecular que es la suma de las masas atómicas (en uma) en una molécula. La masa molar de un compuesto en gramos es numéricamente igual a su masa molecular en uma.

Las moléculas de fármacos que no poseen las propiedades fisicoquímicas requeridas tanto para el acceso al centro activo como para la interacción fármaco-receptor favorable, sólo podrán tener una acción biológica mínima, o estarán totalmente desprovistas de ella (Silverman 1992).

Establecer una relación QSAR consta de seis etapas:

- Planteamiento de los objetivos.
- Determinación de la actividad biológica.
- Descripción de los compuestos.
- Análisis estadístico.
- Interpretación de la relación establecida.
- Predicción de actividades.

D. Resistencia a los fármacos de elección para el tratamiento de la giardiosis y tricomoniosis

Las enfermedades parasitarias causadas por *Trichomonas vaginalis* (vaginitis, uretritis) y *Giardia lamblia* (diarrea) son muy extensas y desagradables, que dan lugar a una enorme pérdida de vidas humanas o animales (Borst y Ouellette 1995). Entre las causas principales del fracaso de su tratamiento se encuentra la resistencia al fármaco (Nash y cols. 2001).

Para interferir con la multiplicación del parásito, el fármaco debe encontrarlo (frecuentemente en una célula del huésped) y buscar su blanco dentro de él; para ello usualmente el fármaco debe atravesar su membrana activándose dentro. El

parásito debe estar suficientemente incapacitado para ser eliminado por la defensa del huésped o morir espontáneamente. Cada uno de éstos pasos provee de oportunidades del parásito para interferir con la acción del fármaco, lo que da lugar a la fármaco-resistencia (Borst Y Oullette 1995).

1. Concepto de resistencia

Lacey (1990) señala la resistencia a fármacos en algún organismo por un cambio en la farmacodinamia y farmacocinética del fármaco (absorción, distribución, metabolismo, excreción y sitio de acción).

Sharma (1997) conceptualiza resistencia como un incremento en la habilidad de un organismo de un tipo de cepa aislada para tolerar dosis de compuestos que son letales para una mayoría de individuos de la misma especie.

2. Causas del desarrollo de resistencia.

El desarrollo de la resistencia esta relacionado con la influencia de múltiples factores que incluyen las interacciones entre el huésped, parásito y ambiente (Walier 1990).

La resistencia "*in vitro*" ha sido demostrada en los cuatro grupos de fármacos giardicidas; nitroimidazoles (metronidazol, tinidazol); nitrofuranos (furazolidona), acridinas (quinacrina) y benzimidazoles (albendazol) (Upcroft y Upcroft 1998); así

como también se ha observado la resistencia al metronidazol por *Trichomonas* en el laboratorio (Townson y cols. 1992). Entre los métodos empleados para evaluar la resistencia a un compuesto determinado, está la exposición de los parásitos a concentraciones ascendentes del fármaco en periodos no continuos de tiempo, lo cual es análogo a la profilaxis o terapia de dosis única (Upcroft y Upcroft 1998).

En dos clínicas en los Estados Unidos (Filadelfia y Detroit), el número de pacientes con tricomoniosis tratados con los fármacos de elección en 1996 que resultaron altamente resistentes fue de 1 por 2000 a 3000 casos. Sin embargo; el número ha incrementado a 17 en 1997 y 1998 (Upcroft y Upcroft 2001).

La resistencia a los compuestos nitroheterocíclicos podría desarrollarse en tres formas (Boreham y cols. 1988):

- a) Reducción del transporte del fármaco dentro de la célula.
- b) El metabolismo del fármaco podría encontrarse perjudicado para su actividad.
- c) Interferencia en la interacción del metabolito activo con DNA .

La resistencia clínica y el fracaso del tratamiento de la giardiosis con el metronidazol y también furazolidona, llega a ser tan alta como del 20% a 90%. Los organismos resistentes han sido aislados de los pacientes con giardiosis refractaria a estos fármacos. Por lo que es lógico asumir que la mala administración y un decremento en la sensibilidad para metronidazol podría conducir a la selección de parásitos *Giardia* resistentes "in vivo". La resistencia de *Giardia* al fármaco se puede desarrollar por varios mecanismos, entre los cuales se incluyen los sistemas de transporte de electrones (Upcroft y Upcroft 1993).

La toxicidad del metronidazol y los nitroimidazoles relacionados dependen de la presencia de un donador de electrones de bajo potencial redox capaz de convertir un grupo nitro en un radical libre agresivo y compuestos nitrosos. El camino metabólico envuelve esos donadores de electrones que sólo existen en organismos anaerobios, y ellos pueden sólo activar el fármaco eficientemente bajo condiciones anaerobias, como competidores de oxígeno con el fármaco como aceptor de electrones. Este camino de activación explica la toxicidad altamente selectiva de nitroimidazoles y fármacos relacionados para organismos anaerobios. Los electrones responsables para la activación del metronidazol en protozoarios son significativamente producidos por la piruvato ferredoxina (PFOR). Un decremento en la actividad de esa vía parece ser el principal mecanismo de resistencia al metronidazol en las cepas aisladas de protozoarios infecciosos. En trofozoitos resistentes de *G. lamblia*, la PFOR es predominantemente afectada y en *T. vaginalis* la ferredoxina es casi totalmente afectada (Borst y Ouellette 1995).

Para combatir la resistencia se pueden tomar en cuenta tres puntos:

1° Conservar la vida útil de los fármacos disponibles actualmente por administración prudente. La terapia en combinaciones de agentes existentes es una vía disponible para conservar la efectividad de anti-giardiales y anti-tricomoniales.

2° La producción de una vacuna; hay gran esperanza que vacunas efectivas podrían estar disponibles, pero han tardado en llegar y algunas veces los investigadores dedicados a la producción de las vacunas no estiman la habilidad

del protozoario para eludir el sistema inmune de los mamíferos; dado que la mayoría de las enfermedades protozoarias son crónicas y ocurren en pacientes inmunocompetentes (Borst y Ouellette 1995).

3° Producir o diseñar nuevos fármacos que pueden ser modificación de los ya existentes, para lo cual necesitamos entender los mecanismos de resistencia al fármaco para prevenir que suceda. El blanco esencial es la vía metabólica y las proteínas presentes, son opciones para el diseño de fármacos análogos. Por ejemplo; en *Giardia* el camino de la arginina-dihidrolasa y proteínas específicas del parásito tales como las giardinas son blanco potencial de los fármacos (Upcroft 1998).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

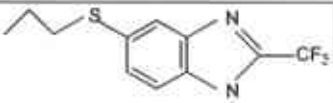
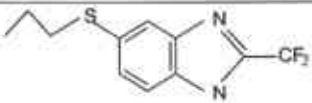
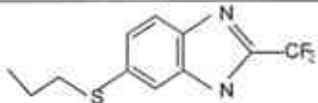
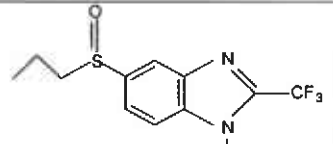
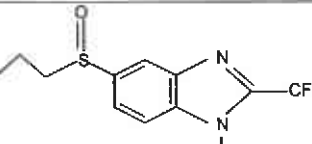
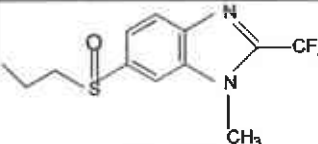
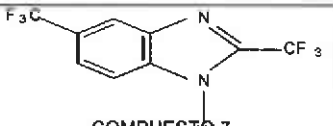
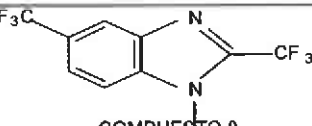
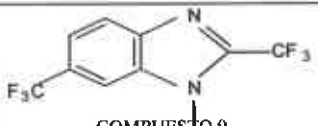
Considerando los efectos secundarios ocasionados por el tratamiento con metronidazol y la falla terapéutica observada en pacientes infectados con *G. lamblia* y *T. vaginalis* relacionada con la aparición de resistencia a éste fármaco, es de relevancia el diseño, síntesis y evaluación de nuevos compuestos con actividad antiprotozoaria.

Este trabajo de tesis consiste en la evaluación de la actividad biológica de 9 nuevos derivados del 2-trifluorometilbencimidazol: 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 2,5(6)-ditrifluorometilbencimidazol, 1-metil-2,5-ditrifluorometilbencimidazol, 1-metil,2,6-ditrifluorometilbencimidazol, por el método de resiembra en trofozoítos de *G. lamblia* y *T. vaginalis*; los resultados obtenidos permitirán en primera instancia la elección de aquellos compuestos con actividad antiprotozoaria los cuales podrían ser evaluados posteriormente con aislados de *G. lamblia* y *T. vaginalis* resistentes al metronidazol; para dar posibles alternativas para el tratamiento de las parasitosis causadas por estos protozoarios y con ello dar una idea para el diseño de nuevos compuestos que satisfagan las necesidades de relación estructura actividad.

La evaluación de su actividad biológica se realizó en el IMSS Centro Médico Siglo XXI, en el Hospital de Pediatría en la Unidad de Investigación de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, en el laboratorio de Parasitología. Las

cepas empleadas para la evaluación de la actividad biológica de los derivados de 2-trifluorometilbencimidazol fueron GT3 para *T. vaginalis* y para *G. lamblia* WB(ATCC30957).

TABLA 2. NUEVOS DERIVADOS DEL 2-TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOL EVALUADOS.

GRUPO			
A	 <p>COMPUESTO 1 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol</p>	 <p>COMPUESTO 2 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol</p>	 <p>COMPUESTO 3 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol</p>
B	 <p>COMPUESTO 4 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol</p>	 <p>COMPUESTO 5 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol</p>	 <p>COMPUESTO 6 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol</p>
C	 <p>COMPUESTO 7 2,5(6)-difluorometilbencimidazol</p>	 <p>COMPUESTO 8 1-metil-2,5-difluorometilbencimidazol</p>	 <p>COMPUESTO 9 1-metil-2,6-difluorometilbencimidazol</p>

IV. HIPÓTESIS

Debido a la buena actividad biológica del albendazol, contra los parásitos *G. lamblia* y *T. vaginalis*, se espera que los 9 nuevos derivados bencimidazólicos, presenten igual o mejor actividad antiparasitaria.

V. OBJETIVO

A) GENERAL

Evaluar la actividad biológica "*in vitro*" de los nueve nuevos derivados del 2-trifluorometilbencimidazol en parásitos protozoarios *Giardia lamblia* y *Trichomonas vaginalis* para establecer una relación estructura-actividad.

B) PARTICULARES

Determinar "*in vitro*" la sensibilidad de trofozoítos de *G. lamblia* a los nueve nuevos derivados del 2-trifluorometilbencimidazol: 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 2,5(6)-ditrifluorometilbencimidazol, 1-metil-2,5-ditrifluorometilbencimidazol, 1-metil,2,6-ditrifluorometilbencimidazol, por el método de resiembra.

Determinar "*in vitro*" la sensibilidad de trofozoítos de *T. vaginalis* a los nueve nuevos derivados del 2-trifluorometilbencimidazol: 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-6-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 1-metil-

6-propilsulfinil-2-trifluorometilbencimidazol, 2,5(6)-ditrifluorometilbencimidazol, 1-metil-2,5-ditrifluorometilbencimidazol, 1-metil,2,6-ditrifluorometilbencimidazol, por el método de resiembra.

Calcular la CI_{50} para cada uno de los compuestos evaluados en trofozoítos de *G. lamblia* mediante un análisis Probit.

Calcular la CI_{50} para cada uno de los compuestos evaluados en trofozoitos de *T. vaginalis* mediante un análisis Probit.

Analizar la relación estructura-actividad de los derivados del 2-trifluorometilbencimidazol evaluados.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

EQUIPO

Microscopio Zeiss

Cámara de Neubauer Scientific Instruments

Incubadora a 37°C Thelco

Estación de trabajo Silicon Graphics modelo Indy

Programa Spartan versión 4.0.

REACTIVOS

Albendazol (Smith-Kline Beechman)

Metronidazol (Sigma)

PBS 10x

Medio TYI-S-33

Suero de ternera descomplementado

MATERIAL

Micropipetas Wilson de 20, 100, 200 y 1000µl

Tubos eppendorf

Gradilla para tubos eppendorf

Pinzas para tubos eppendorf

MATERIAL BIOLÓGICO

Se empleó la cepa de *Giardia lamblia* WB(ATCC30957) y la cepa de *T. vaginalis* GT3; las cuales se mantuvieron en condiciones axénicas en medio TYI-S-33 modificado, suplementado al 10% con suero de ternera descomplementado (a 56°C

por 30 minutos) y la adición del 3% de vitaminas para el caso de *Trichomonas* (Keister 1983).

PROCEDIMIENTO

Pruebas de susceptibilidad "in vitro" para *G. lamblia*.

Para los ensayos de actividad biológica de los nueve nuevos compuestos 2-trifluorometilbencidazólicos se empleó el método de subcultivo previamente descrito por Cedillo y Muñoz (1988). Para esto, se incubaron 50×10^3 trofozoítos/mL por 48 horas a 37°C, en tubos eppendof con concentraciones crecientes (0.1, 0.5, 1, 3, 5 $\mu\text{g/mL}$) de los diferentes derivados del 2-trifluorometilbencimidazol, solubilizados en dimetilsulfóxido a una concentración menor al 0.1%, para lo cual se realizó un conteo en cámara de Neubauer para calcular el volumen que contiene la cantidad de trofozoítos requerida. Después de la incubación se inocularon 50 μL de los trofozoítos tratados, en medio fresco ahora sin la adición de los compuestos y se incubaron por 48 horas más, para así poder observar que tanto afectó el contacto del fármaco con los trofozoítos para su reproducción, lo cual se determina con un conteo del número final de trofozoítos en cámara de Neubauer. El metronidazol y albendazol se incluyeron como compuestos de referencia. Como control negativo se emplearon trofozoítos en medio libre de fármacos. Se calcula el % de inhibición de crecimiento en comparación con el control y posteriormente mediante análisis Probit, basado en la conversión de unidades probits a porcentajes de mortalidad (Finney 1977), se calculó la CI_{50} que correspondió a las concentraciones que

inhiben al 50% el crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por duplicado y se repitieron en tres ocasiones.

Pruebas de susceptibilidad "*in vitro*" para *T. Vaginalis* (Cedillo y Muñoz 1988).

Para estos ensayos también se empleó el método de subcultivos.

En éstos se incubaron 6×10^3 trofozoítos/mL en medio TYIS-33 por 48 horas a 37°C, en tubos eppendoff con concentraciones crecientes de los diferentes derivados del 2-trifluorometilbencimidazol. Después de la incubación se inocularon 50µL de los trofozoítos tratados, en medio fresco libre de los compuestos y se incubaron por 48 horas más. El número final de trofozoítos se determinó en una cámara de Neubauer. El metronidazol y el albendazol sirvieron como compuestos de referencia. Como control negativo se emplearon trofozoítos en medio libre de fármacos. Se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento en comparación con el control y posteriormente mediante Probit (Finney 1977), se calculó la CI_{50} que correspondió a la concentración que inhibe al 50% el crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por duplicado y se repitieron en tres ocasiones.

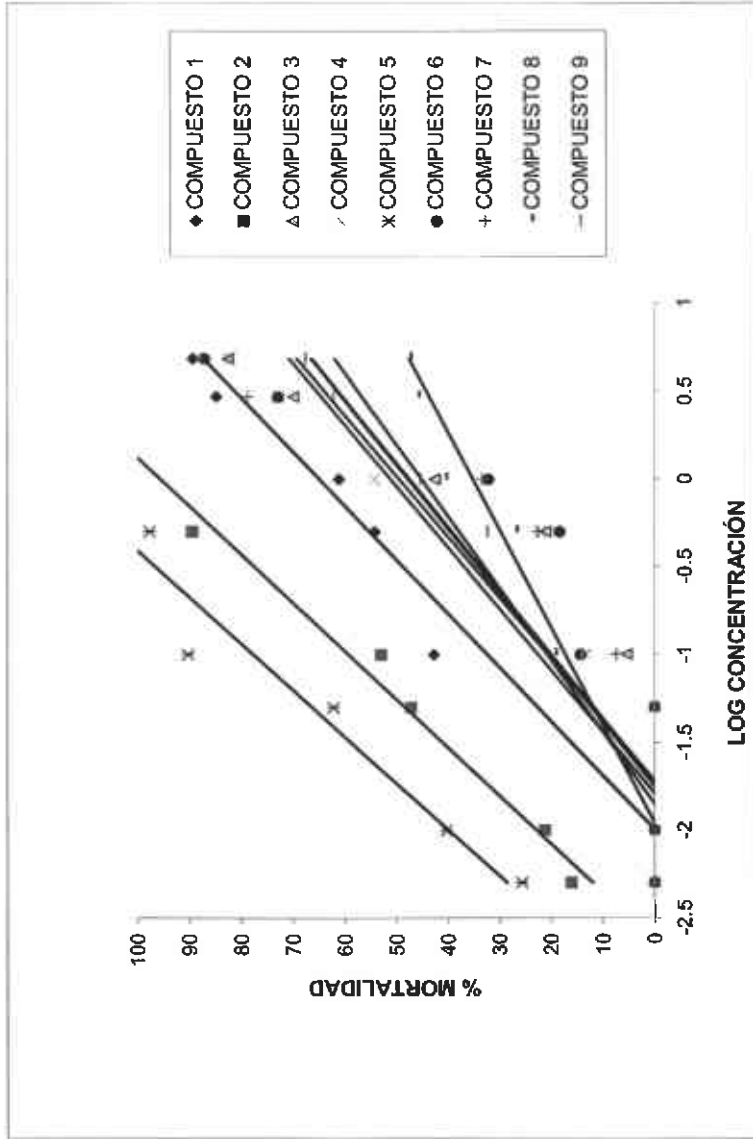
Obtención de descriptores moleculares de los nueve nuevos derivados del 2-trifluorometilbencimidazol:

Los valores teóricos para: Peso molecular, Homo, Lumo, electronegatividad, dureza, y Log de P para los nueve nuevos derivados del 2-trifluorometilbencimidazol; se obtuvieron por análisis en programa Spartan versión 4.0. Para lo cual se

construyeron las estructuras moleculares en 3D y se realizó un análisis conformacional de la posterior optimización geométrica (obtención de la estructura de mínima energía) por el método PM3.

Con los descriptores encontrados se determinó la correlación de cada uno de ellos con la actividad biológica (CI_{50}) de los compuestos frente a *T. vaginalis* y *G. lamblia*. Para determinar la existencia de correlación entre éstos se buscó una r (coeficiente de correlación) cercana o igual a uno, lo cual estadísticamente indica que existe una buena correlación entre algún descriptor y la actividad biológica de los compuestos para cada protozoario. El coeficiente de correlación se calculó mediante la paquetería estadística de Excel.

VII. RESULTADOS

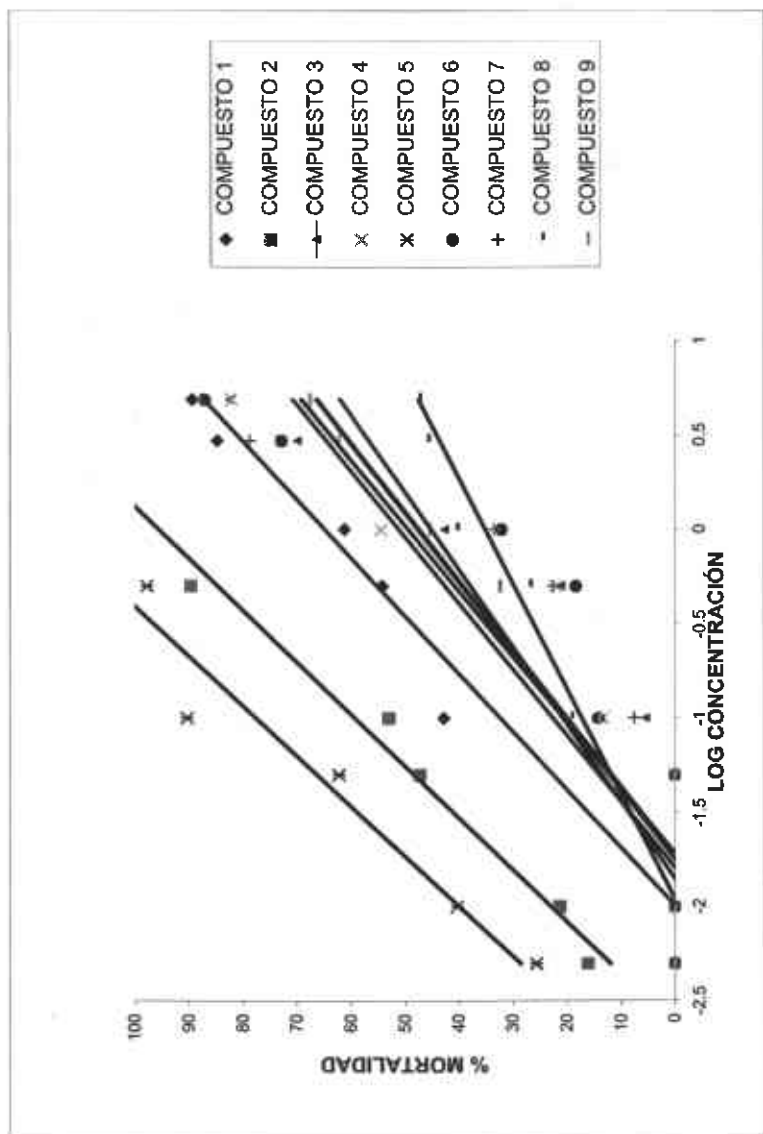


GRAFICA 1. RELACIÓN DEL LOGARITMO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS COMPUESTOS EVALUADOS CON EL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE LOS TROFOZOITOS DE *G. lamblia* TRATADOS.

TABLA 3. SUSCEPTIBILIDAD DE TROFOZOITOS DE *G. lamblia* A LOS NUEVE TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOLES EVALUADOS

COMPUESTO	*CI₅₀ µg/mL	CI₅₀ (Molar)	ECUACION DE LA RECTA
1	0.461	1.771×10^{-3}	$Y = 1.15x + 3.09$
2	0.021	0.007×10^{-3}	$Y = 0.97x + 4.69$
3	4.463	0.0162	$Y = 0.66x + 3.24$
4	2.139	7.742×10^{-3}	$Y = 1.48x + 1.56$
5	0.256	0.881×10^{-3}	$Y = 0.95x + 3.67$
6	1.252	4.312×10^{-3}	$Y = 1.51x + 1.83$
7	2.468	9.711×10^{-3}	$Y = 0.72x + 3.27$
8	12.07	0.0450	$Y = 0.62x + 3.09$
9	2.375	8.856×10^{-3}	$Y = 1.62x + 1.14$
ALBENDAZOL	0.010	0.003×10^{-3}	$Y = 1.45x + 5$
METRONIDAZOL	0.249	1.447×10^{-3}	$Y = 0.77x + 3.92$

*Concentración que inhibe al 50% el crecimiento de los trofozoitos calculada mediante Probit.



GRAFICA 2. RELACIÓN DEL LOGARITMO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS COMPUESTOS EVALUADOS CON EL PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE LOS TROFOZOITOS DE *T. vaginalis* TRATADOS.

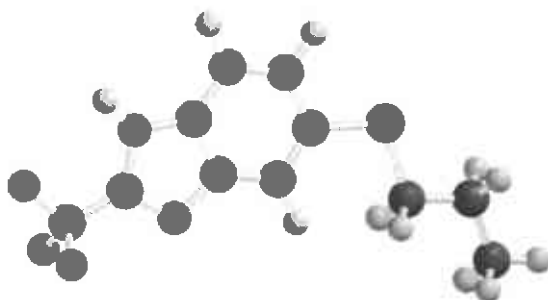
TABLA 4 SUSCEPTIBILIDAD DE TROFOZOITOS DE *T. vaginalis* A LOS NUEVE TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOLES EVALUADOS

COMPUESTO	CI₅₀ μg/mL	CI₅₀ (Molar)	ECUACION DE LA RECTA
1	0.252	0.968×10^{-3}	$Y = 0.84x + 3.83$
2	0.055	0.200×10^{-3}	$Y = 1.07x + 4.2$
3	1.337	4.874×10^{-3}	$Y = 1.53x + 1.74$
4	1.044	3.778×10^{-3}	$Y = 1.29x + 2.39$
5	0.017	0.058×10^{-3}	$Y = 1.31x + 4.69$
6	1.286	4.429×10^{-3}	$Y = 1.39x + 2.07$
7	1.225	4.219×10^{-3}	$Y = 1.67x + 1.51$
8	5.542	20.666×10^{-3}	$Y = 0.5x + 3.62$
9	1.475	5.500×10^{-3}	$Y = 0.92x + 3$
ALBENDAZOL	0.378	1.487×10^{-3}	$Y = 1.68x + 2.35$
METRONIDAZOL	0.034	0.197×10^{-3}	$Y = 1.39x + 4.25$

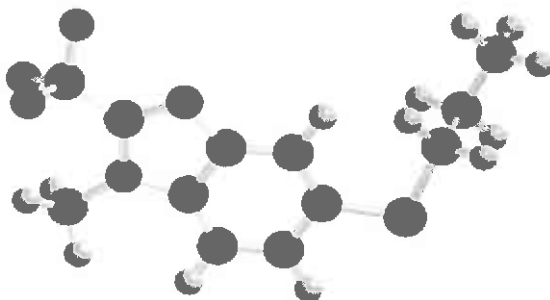
*Concentración que inhibe al 50% el crecimiento de los trofozoitos calculada mediante Probit.

FIGURA 8. MOLÉCULAS DE MÍNIMA ENERGÍA DISEÑADAS MEDIANTE SPARTAN VERSIÓN 4.0 DE LOS NUEVE NUEVOS DERIVADOS DEL 2-TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOL.

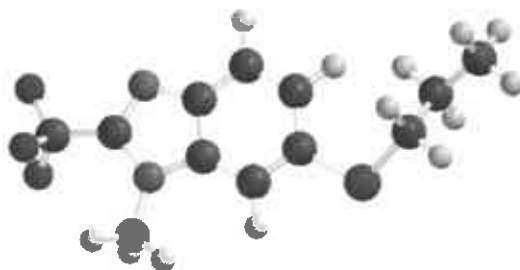
COMPUESTO 1
5(6)-propilsulfenil-2-
trifluorometilbencimidazol



COMPUESTO 2
1-metil-5-propilsulfenil-2-
trifluorometilbencimidazol



COMPUESTO 3
1-metil-6-propilsulfenil-2-
trifluorometilbencimidazol,



COMPUESTO 4
5(6)-propilsulfinil-2-
trifluorometilbencimidazol



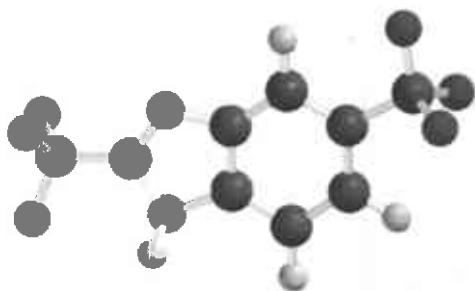
COMPUESTO 5
1-metil-5-propilsulfinil-2-
trifluorometilbencimidazol



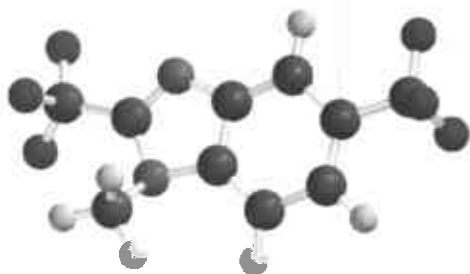
COMPUESTO 6
1-metil-6-propilsulfinil-2-
trifluorometilbencimidazol



COMPUESTO 7
2,5(6)-
difluorometilbencimidazol



COMPUESTO 8
1-metil-2,5-
difluorometilbencimidazol



COMPUESTO 9
1-metil,2,6-
difluorometilbencimidazol

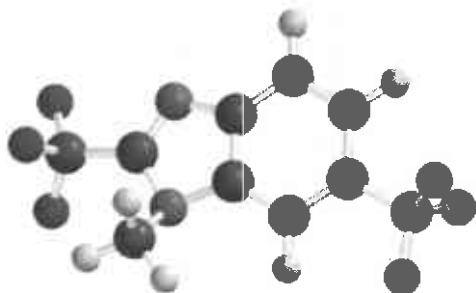


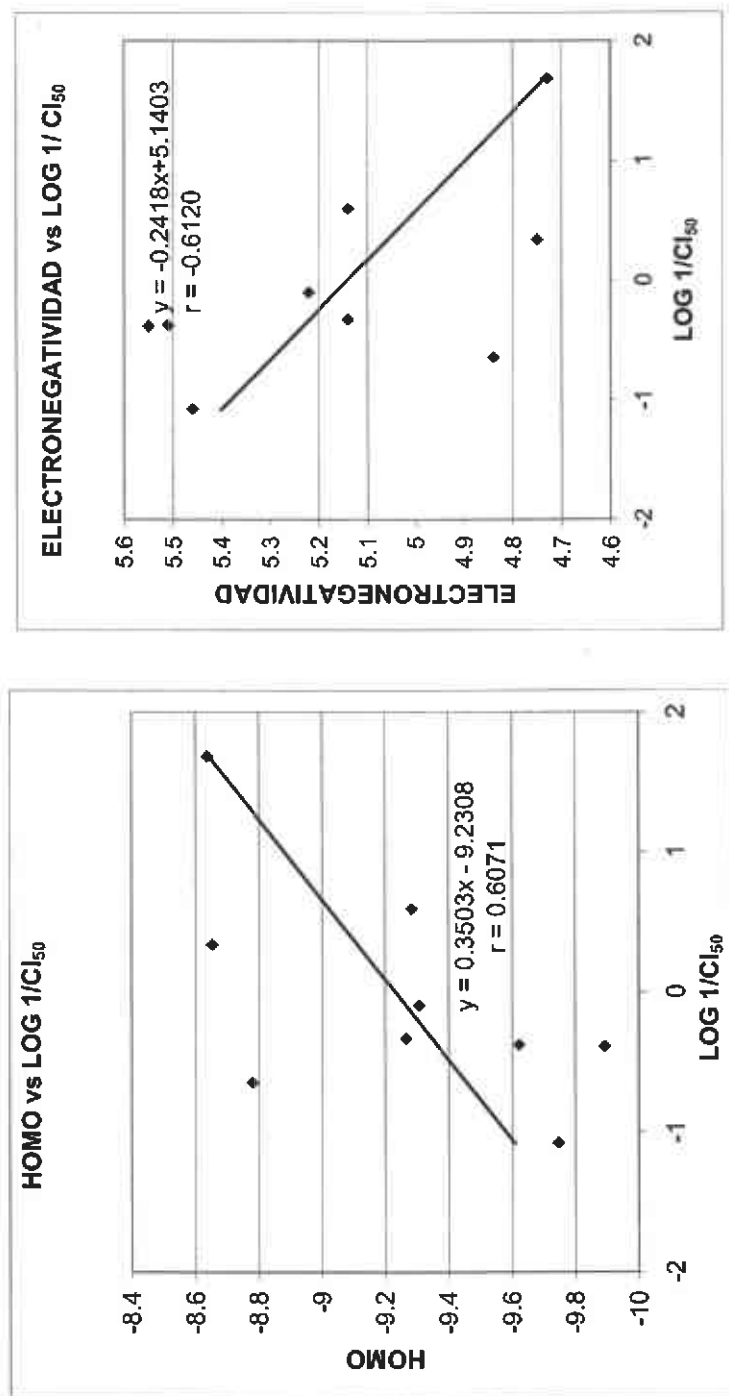
TABLA 5 VALORES TEÓRICOS DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES OBTENIDOS EN EL PROGRAMA SPARTAN VERSIÓN 4 DE LOS 9 NUEVOS TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOLES.

COMPUESTO	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE-CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR-PM3)
1	260.281	-8.654	-8.432	4.75	3.91	3.74	3.85	4.21
2	274.308	-8.637	-8.287	4.73	3.9	4.53	4.25	4.35
3	274.308	-8.779	-8.935	4.84	3.94	4.53	4.25	4.19
4	276.28	-9.265	-1.020	5.14	4.12	2.48	2.66	2.73
5	290.307	-9.283	-0.988	5.14	4.15	3.27	3.08	2.53
6	290.307	-9.309	-1.127	5.22	4.09	3.27	3.14	2.6
7	254.133	-9.890	-1.206	5.55	4.34	3.39	2.95	3.41
8	268.16	-9.748	-1.163	5.46	4.29	4.18	3.26	3.49
9	268.16	-9.624	-1.327	5.51	4.18	4.18	3.38	3.91

TABLA 6 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS NUEVE NUEVOS TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOLES CONTRA *G. lamblia*.

	Cl ₅₀ µg/mL	1+ Cl ₅₀	LOG 1+ Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl ₅₀ 1+ Cl ₅₀	1 -0.3225	1									
LOG 1+ Cl ₅₀	-0.7173	0.8322	1								
PESO MOLECULAR	-0.2241	0.0744	0.2406	1							
(g)											
HOMO	-0.4556	0.5066	0.5057	0.1869	1						
LUMO	-0.3435	0.4950	0.5888	0.1514	0.9144	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	0.4278	-0.5136	0.0119	-0.1815	-0.990	-0.961	1				
DUREZA	0.4722	-0.4894	-0.5760	-0.2015	-0.985	-0.835	0.9545	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	0.2884	0.4158	0.1094	-0.2396	0.2949	0.1581	-0.2478	-0.3332	1		
LOG P (DIXON)	-0.0850	0.5407	0.3926	-0.1211	0.7473	0.6120	-0.7122	-0.7651	0.8434	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	0.0580	0.4192	0.1852	-0.5977	0.4688	0.3280	-0.4248	-0.4955	0.8184	0.8414	1

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA MÁS CERCANOS A UNO



GRAFICAS 3,4 REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA G. Jambilia DE LOS NUEVE NUEVOS COMPUESTOS DERIVADOS DEL 2-TRIFLUOROMETILBENZIMIDAZOL.

TABLA 7 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL GRUPO (A) CONTRA G. lamblia.

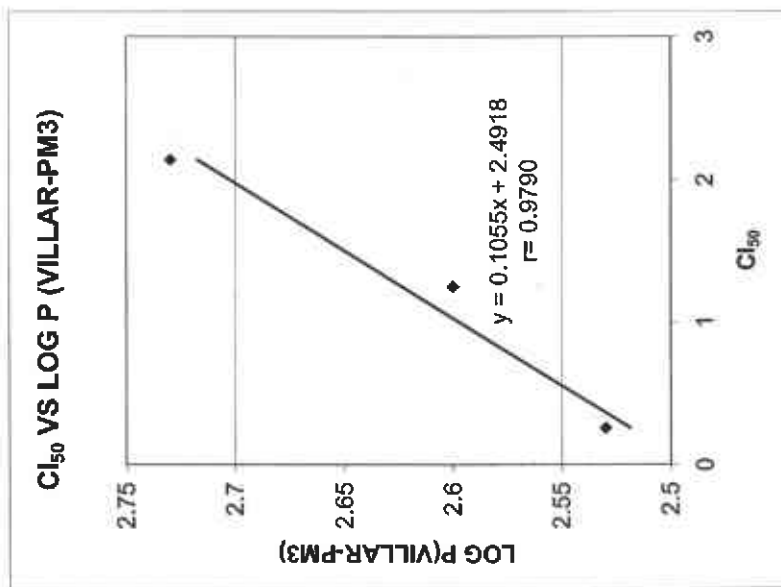
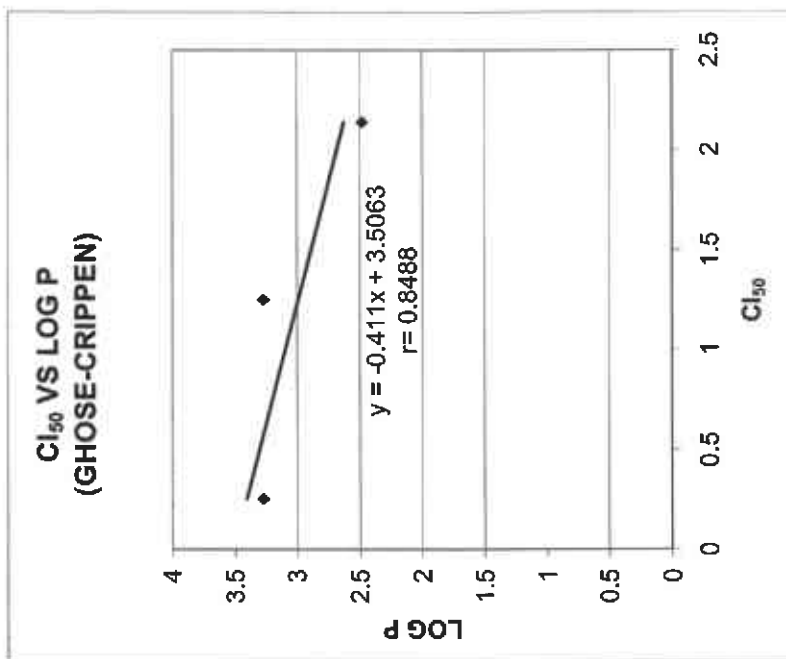
	Cl ₅₀ µg/mL	1 + Cl ₅₀	LOG 1 + Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl ₅₀ , µg/mL	↑										
1 + Cl ₅₀	-0.6902	↑									
LOG	-0.9304	0.8922	1								
1 + Cl ₅₀											
PESO	0.1722	0.4757	0.1520	↑							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	-0.3149	-0.2639	0.0997	-0.8037	1						
LUMO	-0.5321	0.0180	0.3516	-0.7710	0.9284	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	0.3773	0.1979	-0.1660	0.8088	-0.995	-0.960	↑				
DUREZA	0.1748	0.4017	0.0428	0.7691	-0.980	-0.837	0.9567	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	-0.1663	-0.0611	0.1506	-0.3393	0.8170	0.7107	-0.7962	-0.8313	1		
LOG P (DIXON)	-0.1758	-0.1736	0.0891	-0.5194	0.9111	0.7966	-0.8904	-0.9224	0.9794	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	-0.2039	-0.3322	0.0059	-0.7865	0.9915	0.90165	-0.9815	-0.9844	0.8416	0.9297	1

TABLA 8 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL GRUPO

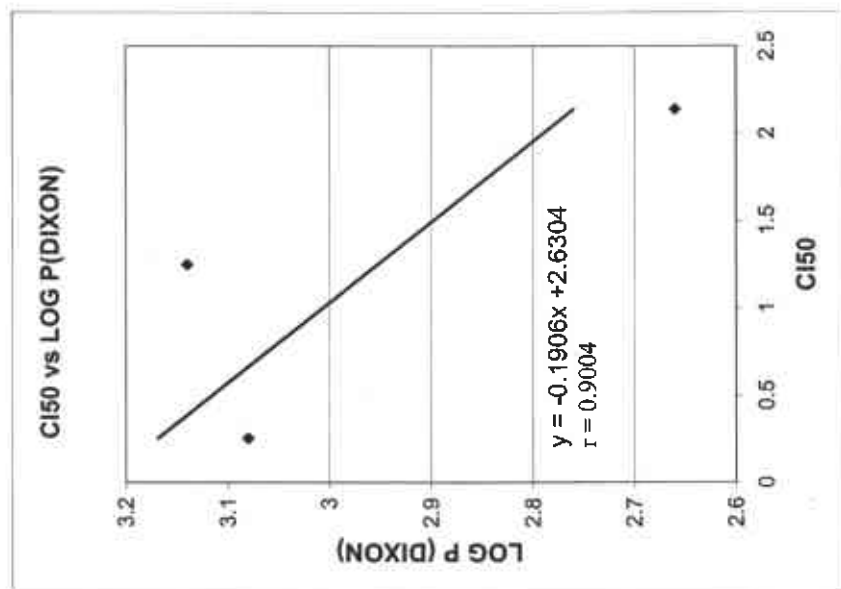
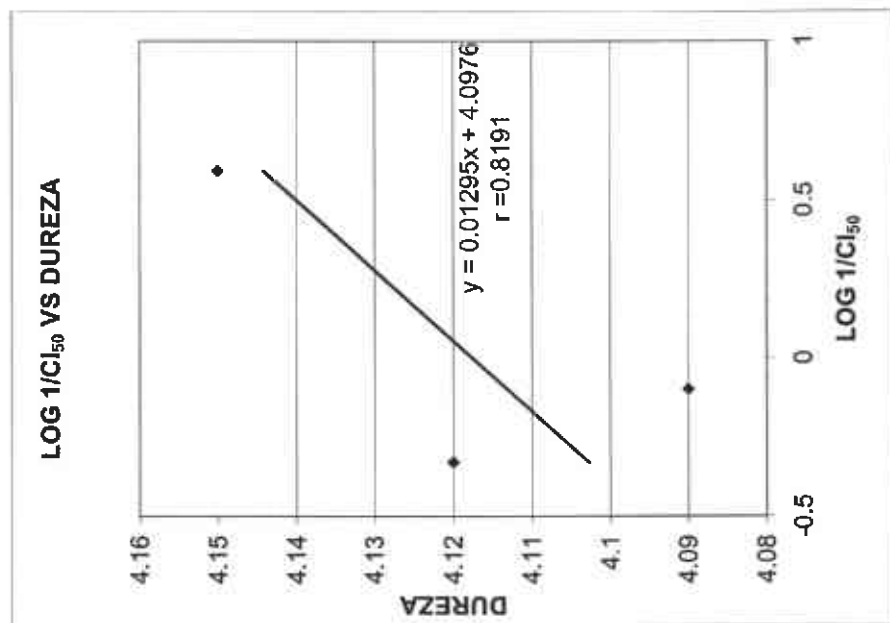
(B) CONTRA G. *lambli*a.

	Cl ₅₀ µg/mL	1 + Cl ₅₀	LOG 1 ÷ Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl ₅₀ (µg/mL)	1										
1 + Cl ₅₀	-0.9189	1									
LOG	-0.9700	0.9876	1								
1 ÷ Cl ₅₀											
PESO	-0.8488	0.5736	0.6951	1							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	0.3767	0.0164	-0.1406	-0.80951	1						
LUMO	-0.2535	0.6124	0.4807	-0.2961	0.8004	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	0.0334	-0.4224	-0.2749	0.5	-0.913	-0.975	1				
DUREZA	-0.5286	0.1693	0.7188	0	0.5870	0.9551	-0.8660	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	-0.9488	0.5736	0.6951	1	-0.809	-0.296	0.5	0	1		
LOG P (DIXON)	-0.7923	0.4759	0.6080	0.9933	-0.871	-0.403	0.5960	-0.1147	0.9933	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	0.9730	-0.8209	-0.9004	-0.9386	0.5573	-0.051	-0.1706	-0.3449	-0.9386	-0.8928	1

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA MÁS CERCANOS A UNO.



GRAFICAS 5 y 6 REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACION INHIBITORIA CINCUENTA PARA G. lamblia DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DEL 2-TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOL PERTENECIENTES AL GRUPO B.

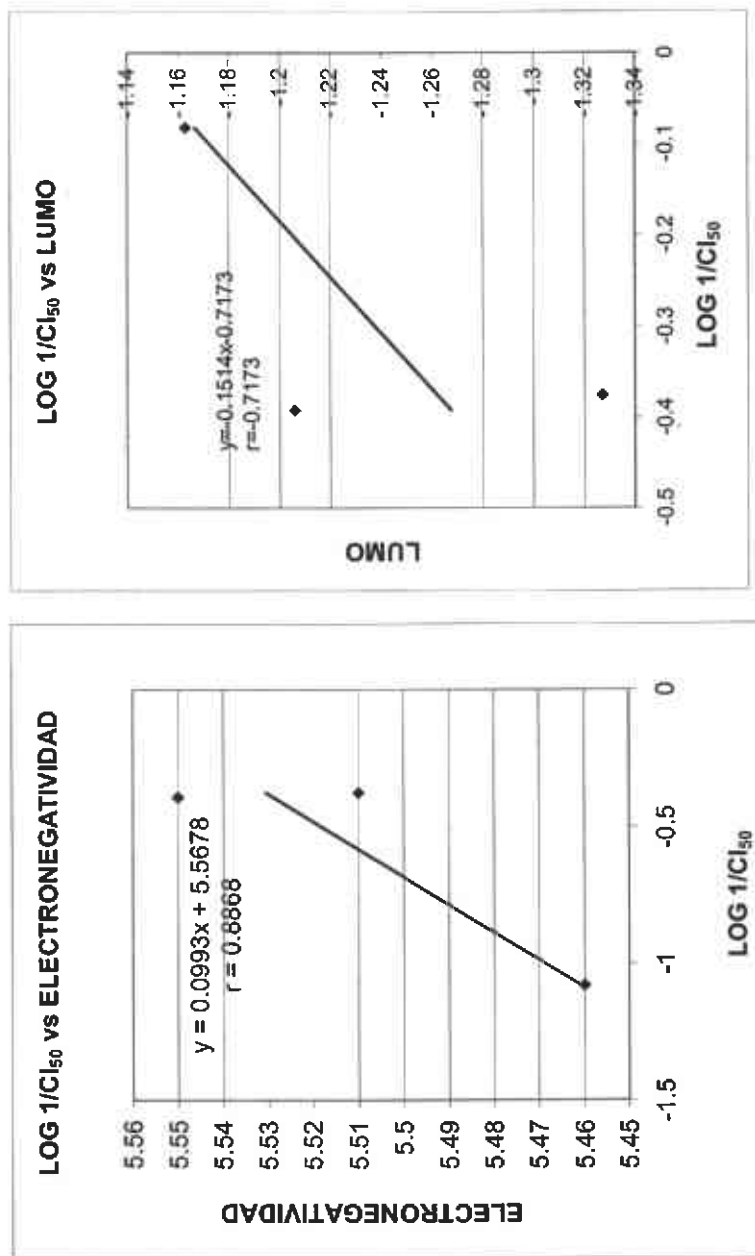


GRAFICAS 7 y 8 REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *G. lamblia* DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DEL 2-TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOL PERTENECIENTES AL GRUPO B.

TABLA 9 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL GRUPO (C) CONTRA G. lamblia.

	C ₁₅₀	1+ C ₁₆₀	LOG 1+ C ₁₆₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
C ₁₅₀ , µg/mL	†										
1+ C ₁₆₀	-0.9944	†									
LOG	-0.9999	0.9997	†								
1+ C ₁₆₀											
PESO	0.4927	-0.4634	-0.4819	†							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	0.0310	0.0022	-0.0186	0.88505	†						
LUMO	-0.1551	-0.5455	0.7173	-0.2649	-0.683	†					
ELECTRONEGATIVIDAD	-0.8925	0.8770	0.8886	-0.8322	-0.478	-0.314	†				
DUREZA	0.2197	-0.2521	-0.2318	-0.74061	-0.968	0.8441	0.2438	†			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	0.4927	-0.4634	-0.4819	†	0.8850	-0.264	-0.8322	-0.7406	†		
LOG P (DIXON)	0.2390	-0.2066	-0.2270	0.9627	0.9779	-0.515	-0.6513	-0.8947	0.9627	†	
LOG P (VILLAR-PM3)	-0.3732	0.4039	0.3846	0.6234	0.9157	-0.919	-0.0853	-0.9870	0.6234	0.8116	†

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA MÁS CERCANOS A UNO.



GRAFICAS 9 Y 10 REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA G. *lamblia* DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DEL 2-TRIFLUOROMETILBENCIMIDAZOL PERTENECIENTES AL GRUPO C.

**TABLA 10 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS NUEVE NUEVOS
COMUESTOS TRIFLUOROMETILBENZIMIDAZOLES CONTRA *T. vaginalis*.**

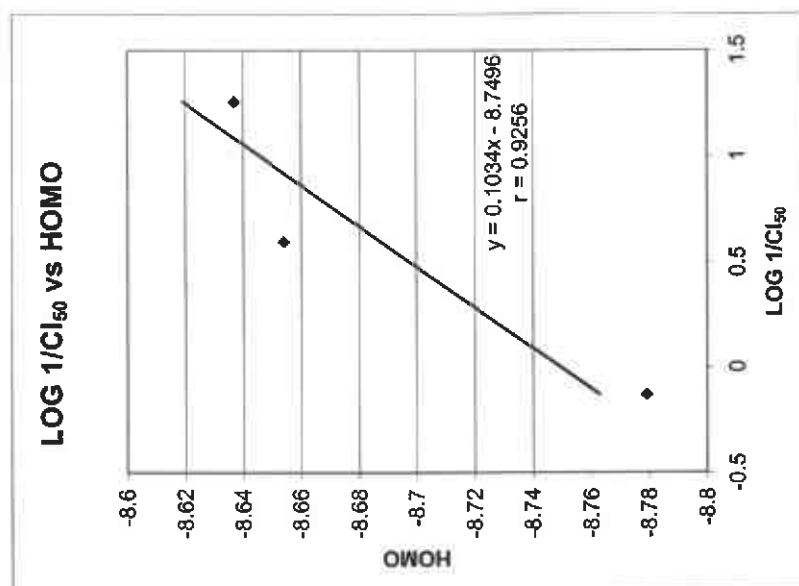
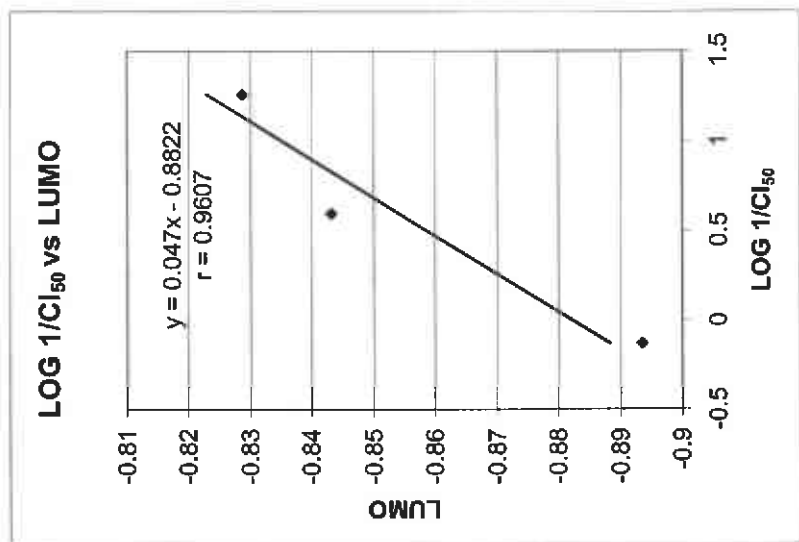
	Cl ₅₀ µg/mL	1+ Cl ₅₀	LOG 1+ Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl ₅₀ µg/mL	1										
1+ Cl ₅₀	-0.4117	1									
LOG	-0.6525	0.6309	1								
1+ Cl ₅₀											
PESO	-0.1938	0.5297	0.5120	1							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	-0.5516	0.1432	0.5001	0.1869	1						
LUMO	-0.4712	0.2880	0.5714	0.1514	0.9144	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	0.5345	-0.1885	-0.5233	-0.1815	-0.990	-0.961	1				
DUREZA	0.5486	-0.0589	-0.5557	-0.2015	-0.985	-0.835	0.9545	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	0.2122	-0.1248	0.0121	-0.2395	0.2949	0.1581	-0.2478	-0.3332	1		
LOG P (DIXON)	-0.1936	-0.0493	0.2930	-0.1211	0.7473	0.6120	-0.7122	-0.7651	0.8434	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	-0.0289	-0.3440	-0.0324	-0.5977	0.4686	0.3280	-0.4248	-0.4955	0.8184	0.8414	1

**COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA
MÁS CÍRCULOS A UNO**

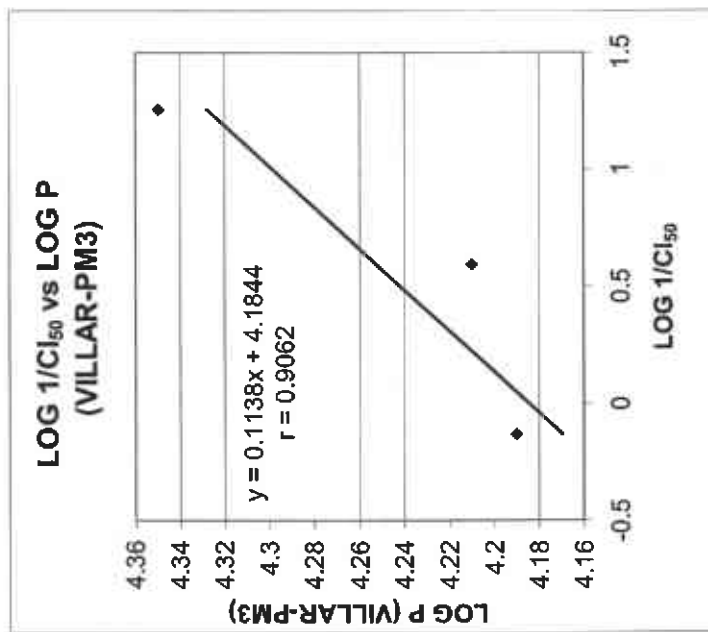
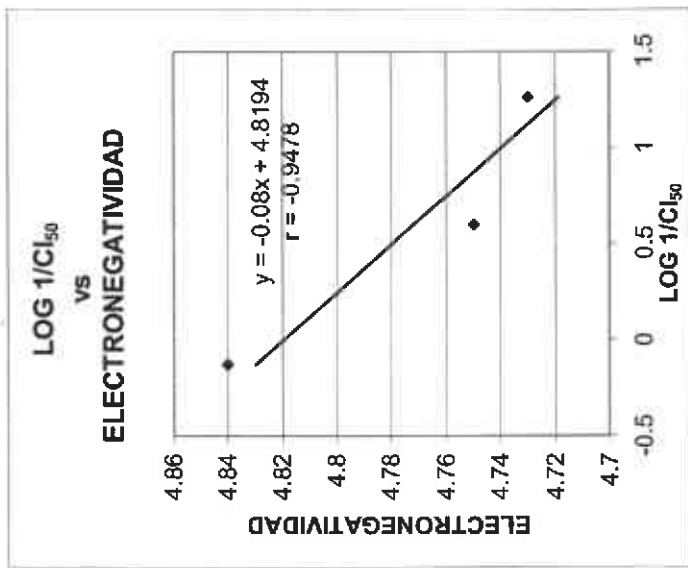
TABLA 11 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LAS ACTIVIDADES DE LOS COMPUESTOS DEL GRUPO (A) CONTRA *T. vaginalis*.

	Cl ₅₀ µg/mL	1+ Cl ₅₀	LOG 1+ Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl ₅₀ µg/mL	1										
1+ Cl ₅₀	-0.7454	1									
LOG	-0.9384	0.9297	1								
1+ Cl ₅₀											
PESO	0.3713	0.3420	-0.0278	1							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	-0.9993	0.7213	0.9256	-0.4040	1						
LUMO	-0.9974	0.7912	0.7607	-0.3036	0.9942	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	0.9995	-0.7640	0.5478	0.3448	-0.997	-0.999	1				
DUREZA	0.9950	-0.9079	0.7681	0.2773	-0.990	-0.999	0.9974	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	0.3713	0.3420	-0.0278	1	-0.404	-0.303	0.3448	0.2773	1		
LOG P (DIXON)	0.3713	0.3420	-0.0278	1	-0.404	-0.303	0.3448	0.2773	1	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	-0.7045	0.9995	0.9995	0.3973	0.6788	0.7535	-0.7243	-0.7714	0.39773	0.3973	1

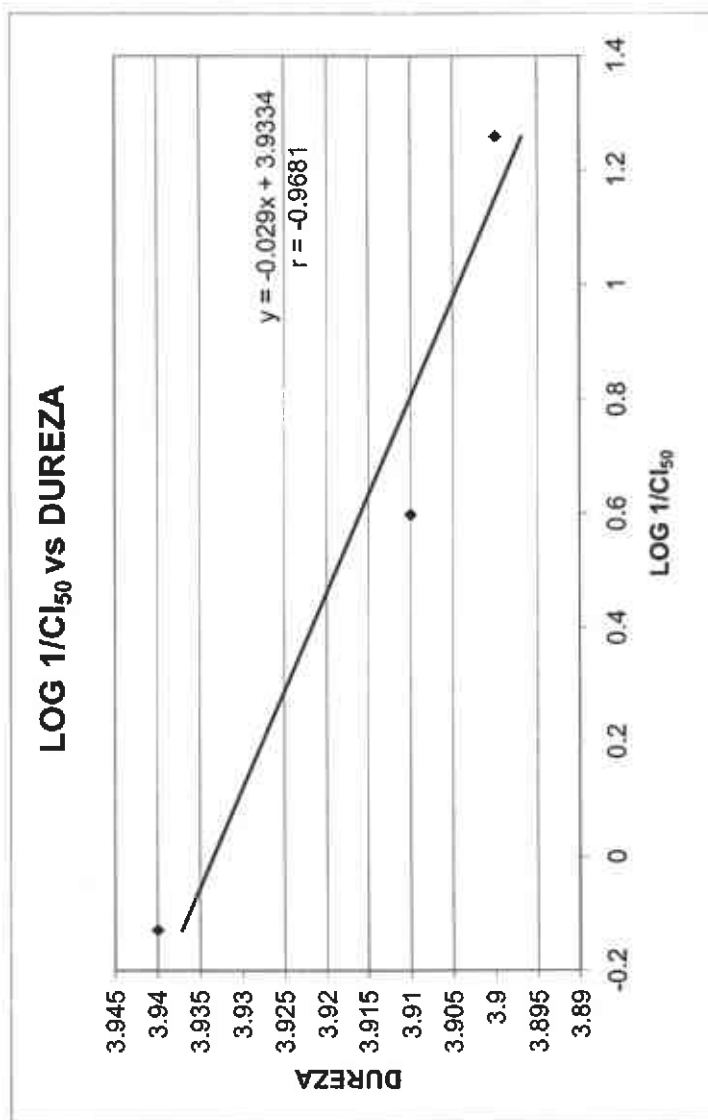
COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA MÁS CERCANOS A UNO.



GRAFICAS 11 y 12. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACION INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO A.



GRAFICAS 13 y 14. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO A.

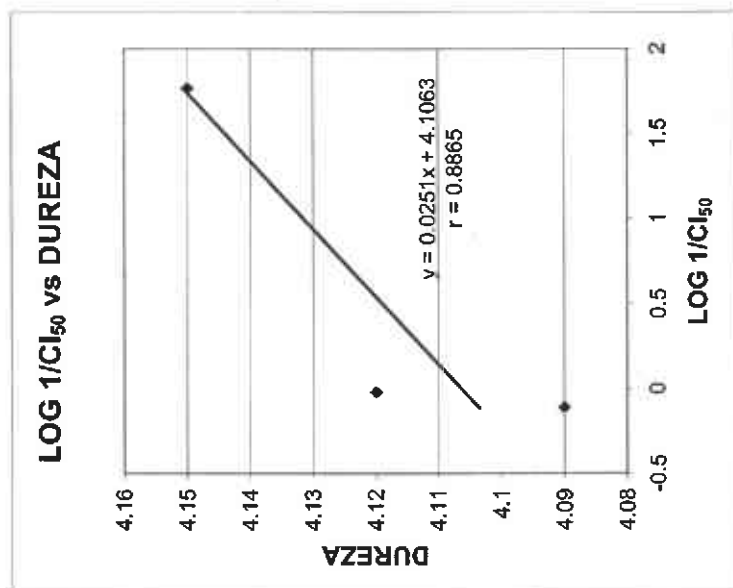
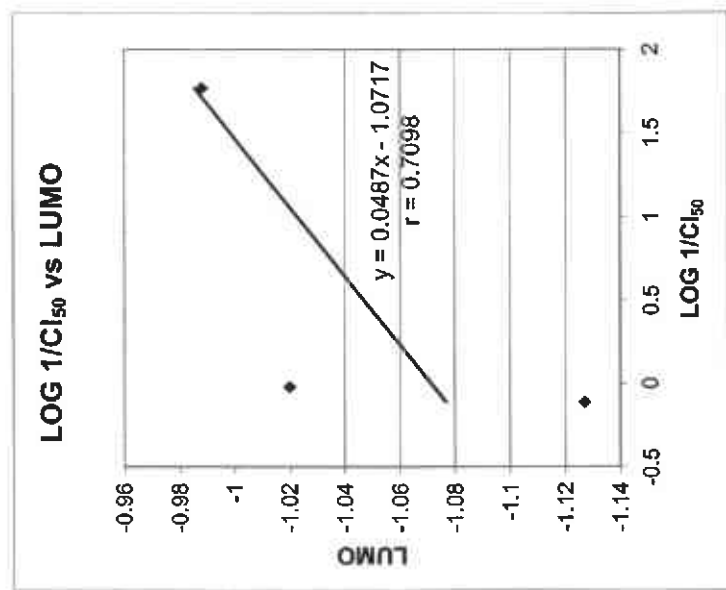


GRAFICA 15. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO A.

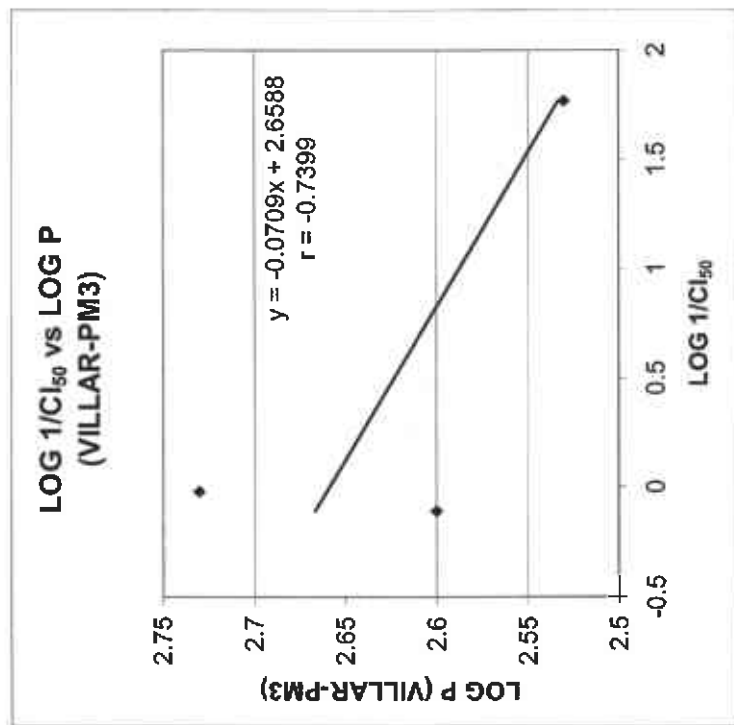
TABLA 12 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL GRUPO (B) CONTRA *T. vaginalis*.

	Cl ₅₀ μg/ml	1 ÷ Cl ₅₀	LOG 1 ÷ Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl _{50, int.}	1										
1 ÷ Cl ₅₀	-0.9842	1									
LOG	-0.9905	0.9991	1								
1 ÷ Cl ₅₀											
PESO	-0.3363	0.4976	0.4625	1							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	-0.2806	0.1063	0.1460	-0.8095	1						
LUMO	-0.7998	0.5810	0.7068	-0.2961	0.8004	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	0.6474	-0.5023	-0.5365	0.5	-0.913	-0.975	1				
DUREZA	-0.9417	0.8673	0.9665	0	0.5870	0.9551	-0.8660	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	-0.3363	0.4976	0.4625	1	-0.809	-0.296	0.5	0	1		
LOG P (DIXON)	-0.2260	0.3948	0.3578	0.9933	-0.871	-0.403	0.5960	-0.1147	0.9933	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	0.6404	-0.7662	-0.7393	-0.9386	0.5573	-0.051	-0.1706	-0.3448	-0.9386	-0.8928	1

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA MÁS CERCANOS A UNO.



GRAFICAS 16 y 17. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO B.

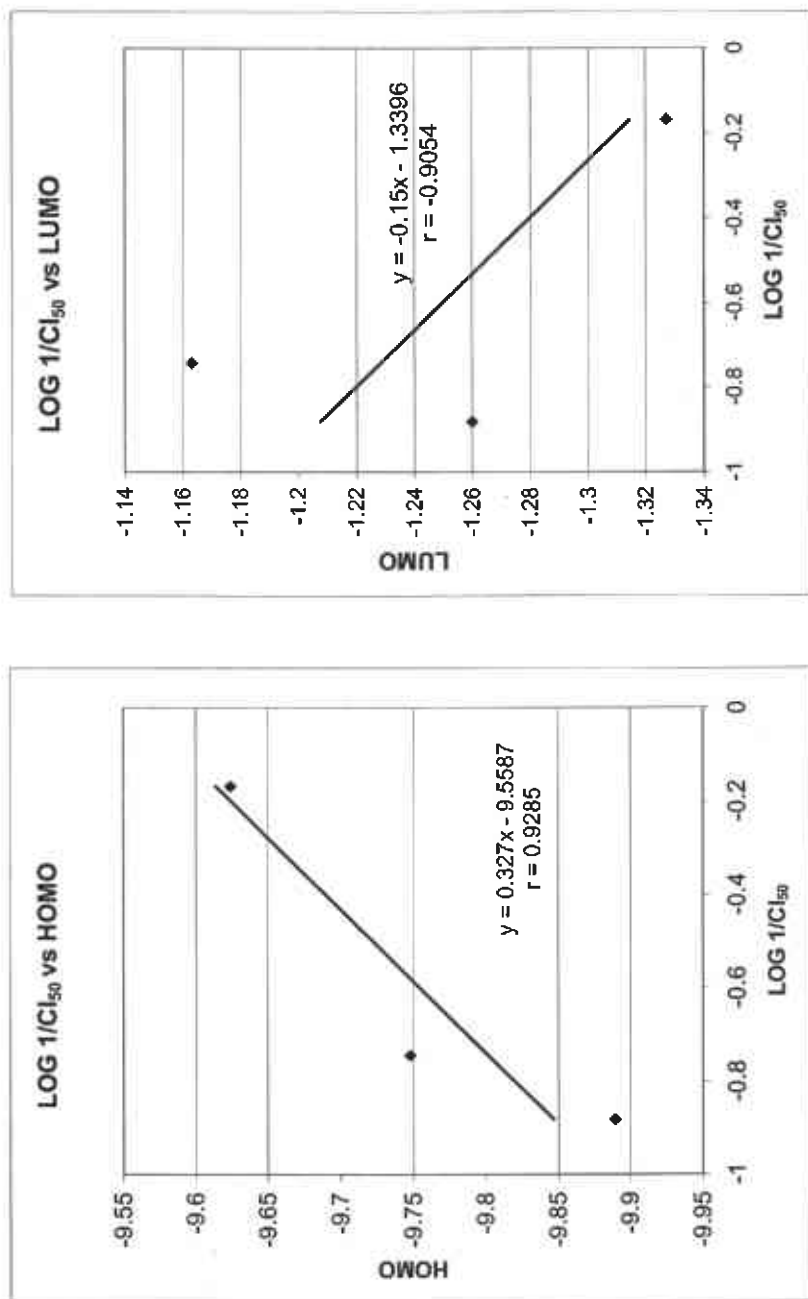


GRAFICA 18. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO B.

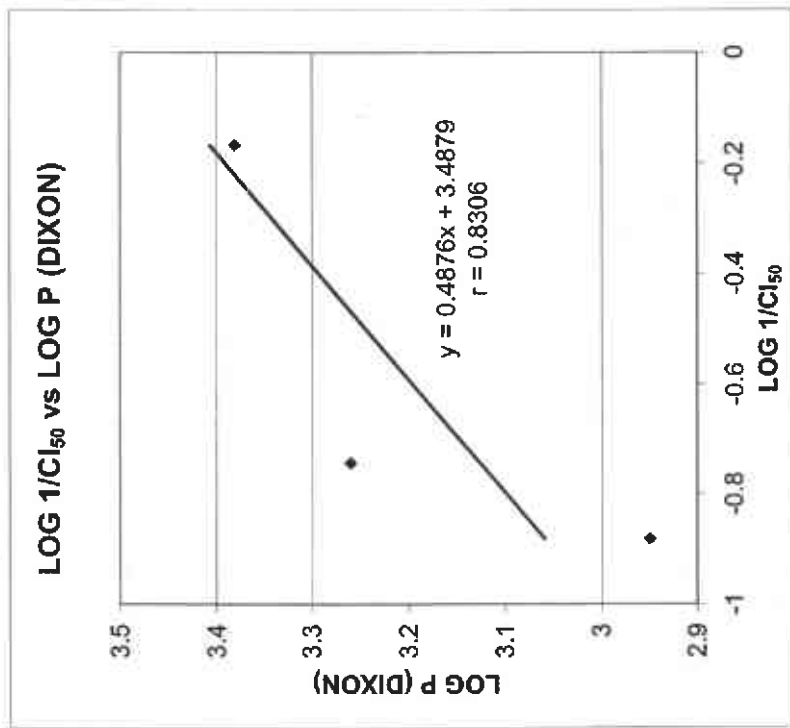
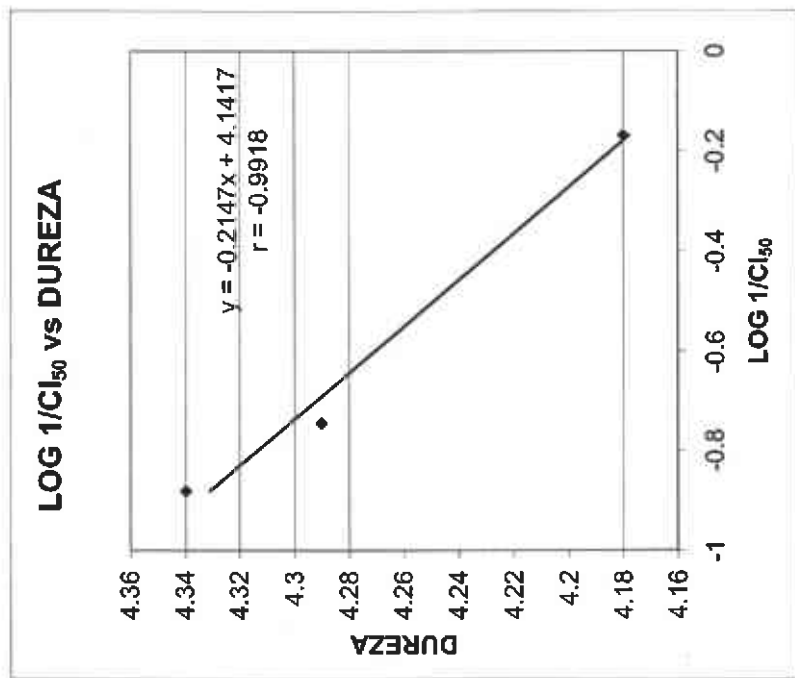
TABLA 13 CORRELACIÓN CRUZADA DE LOS DESCRIPTORES MOLECULARES Y LA ACTIVIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL GRUPO (C) CONTRA *T. vaginalis*

	Cl ₅₀ µg/mL	1 + Cl ₆₀	LOG 1 + Cl ₅₀	PESO MOLECULAR (g/mol)	HOMO	LUMO	ELECTRONEGATIVIDAD	DUREZA	LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	LOG P (DIXON)	LOG P (VILLAR- PM3)
Cl ₅₀ /ml	1										
1 + Cl ₆₀	-0.987	1									
LOG	-0.2851	0.1319	1								
1 + Cl ₅₀											
PESO	0.5440	-0.6683	0.6491	1							
MOLECULAR											
(g)											
HOMO	0.0908	-0.2453		0.9850	1						
LUMO	0.6649	-0.5401		-0.2649	-0.663	1					
ELECTRONEGATIVIDAD	-0.9179	0.9055	-0.1184	-0.8322	-0.478	-0.314	1				
DUREZA	0.1609	-0.0047	-0.9518	-0.7406	-0.968	0.8441	0.2438	1			
LOG P (GHOSE- CRIPPEN)	0.5440	-0.6683	0.6491	1	0.8850	-0.264	-0.8322	-0.74061	1		
LOG P (DIXON)	0.2968	-0.4423		0.9627	0.9779	-0.515	-0.6513	-0.8947	0.96274	1	
LOG P (VILLAR-PM3)	-0.3169	0.1649		0.6234	0.9157	-0.919	-0.08532	-0.9870	0.62340	0.8116	1

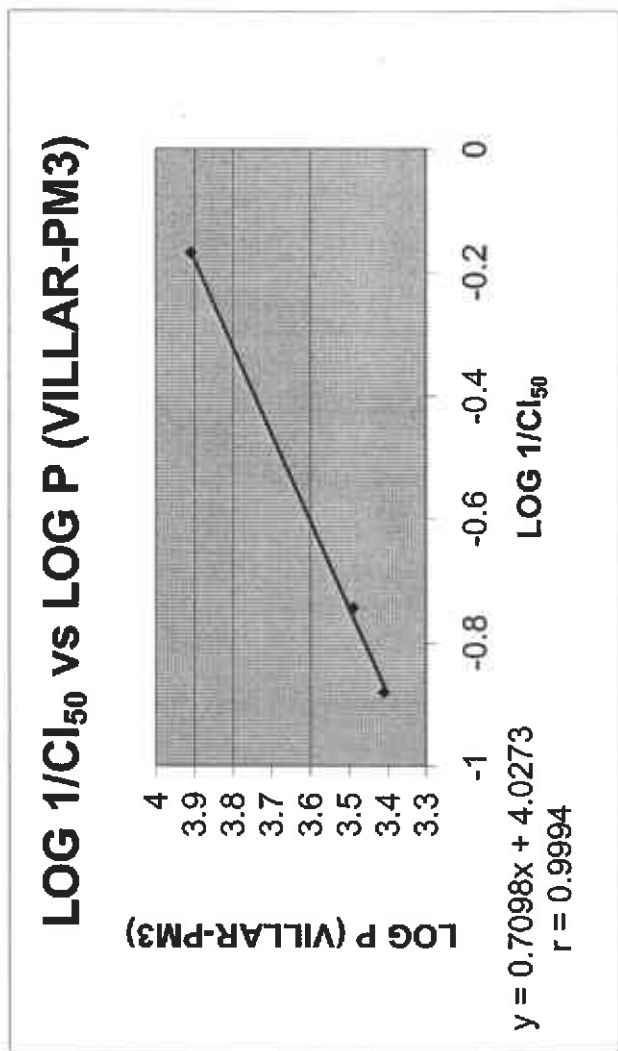
COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE DESCRIPTOR Y CONCENTRACION INHIBITORIA CINCUENTA MÁS CERCANOS A UNO.



GRAFICAS 19 y 20. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO C.



GRAFICAS 21 y 22. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO C.



GRAFICA 23. REPRESENTACIÓN DE LA RECTA Y ECUACIÓN DE LA RECTA PARA LOS DESCRIPTORES CON MEJOR CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA CINCUENTA PARA *T. vaginalis* DE LOS COMPUESTOS PERTENECIENTES AL GRUPO C.

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los compuestos evaluados se dividieron en grupos de acuerdo al tipo de sustituyente en la posición 5 o 6 del anillo bencimidazólico (tabla 1). En el grupo A se encuentran los compuestos con sustituyente propilsulfenil, en el grupo B los propilsulfenil sustituidos y en el grupo C, los compuestos con sustituyente trifluorometil.

Los resultados obtenidos en los bioensayos de susceptibilidad demuestran lo siguiente:

Dentro del grupo A, la CI_{50} más baja contra *G. lamblia* se obtuvo con el compuesto 2 con un valor de $0.021\mu\text{g/mL}$ (tabla 3), es decir este compuesto mostró la mayor actividad. El compuesto 2 fue la mitad de activo que el albendazol que tiene una CI_{50} de $0.010\mu\text{g/mL}$; sin embargo su actividad fue 11 veces mayor que la del metronidazol ($0.249\mu\text{g/mL}$).

Al compararse las CI_{50} de los compuestos 1, 2 y 3, puede observarse que el sustituyente propilsulfenil en posición 5 (compuesto 2) confirió la mayor actividad anti-*Giardia*; siguiendo en actividad el compuesto 1, el cuál es un tautomero, ya que el sustituyente propilsulfenil está en posición 5 o 6, en ausencia del sustituyente

metilo en posición 1. Por último el compuesto 3 tuvo una actividad muy baja (4.463 μ g/ml). Este compuesto tiene el sustituyente propilsulfenil en posición 6.

Con respecto a la actividad de los compuestos 4, 5 y 6 (grupo B), se obtuvo que el compuesto 5 fue el más activo contra *G. lamblia* con CI_{50} de 0.256 μ g/mL, la cual es similar a la observada con el metronidazol; sin embargo este compuesto no fue más activo que el albendazol.

En este grupo observamos que el sustituyente propilsulfenil en posición 5, confiere la mayor actividad. En orden decreciente de actividad, se encuentra el compuesto 6 con sustituyente en posición 6 con mejor actividad que el compuesto 4; a diferencia de lo obtenido con el grupo A,

Si comparamos en estos dos grupos a los compuestos más activos de cada uno de ellos 2 y 5, tenemos que la actividad antiparasitaria disminuye al oxidar el propilsulfenil a propilsulfenil en posición 5; sin embargo, si oxidamos el mismo grupo en posición 6 la actividad se ve incrementada. Por otro lado, comparando los taútomeros de los grupos A y B; se observa que la actividad se ve disminuída al oxidar el grupo propilsulfenil.

Al analizar los resultados obtenidos con el grupo C, resulta evidente que ninguno de los compuestos (7, 8 y 9) tuvo una actividad similar o superior a la del albendazol ni a la del metronidazol.

Tomando en cuenta las CI_{50} de los compuestos evaluados se llevo a cabo un análisis en programa Spartan para obtener los descriptores correspondientes a cada molécula (Tabla 6) y con ellos tratar de encontrar una relación entre ellas. Este análisis se llevó a cabo primero con los nueve compuestos, donde se encontró una relación óptima entre el homo y Log P(Dixon) con la concentración inhibitoria cincuenta. Tomando en cuenta que los nueve nuevos compuestos son estructuras moleculares diferentes en sus sustituyentes, se decidió realizar también este análisis por grupo.

En el análisis realizado para el grupo A no se encontró ninguna correlación de la actividad biológica y los descriptores obtenidos (Tabla 7). En el grupo B se encontró una buena relación ($r=0.8190$) con la dureza y $1/CI_{50}$, Log P(Villar-PM3) con $r=-0.9004$ y el Log $1/CI_{50}$, así como entre el Log P(Ghose-Crippen) y Log P(DIXON) y la CI_{50} con una $r=-0.8488$ y $r=-0.7825$ respectivamente de cada una de las moléculas (Tabla 8). En el caso del grupo C se observó buena relación entre el Log $1/CI_{50}$ con la electronegatividad con una $r=0.8868$ y el Lumo con $r=-0.7173$ (Tabla 9). La buena correlación se puede observar en las gráficas representadas de cada uno de los descriptores seleccionados, en las cuales se muestra que tan cercanos se encuentran los puntos de la recta, confirmados por su respectiva r .

Por otro lado en relación con los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad biológica contra *T. vaginalis* se obtuvo lo siguiente:

El grupo A conserva la tendencia que se observó en *G. lamblia*, ya que el compuesto 2 presentó la mejor actividad seguido en orden descendente de actividad el compuesto 1 y el compuesto 3. El compuesto 2 fue 6.8 veces más activo que el albendazol y la actividad del compuesto 1 fue relativamente mejor al albendazol (1.5 veces)

Dentro del grupo B se conservó también la tendencia observada con *G. lamblia*, es decir el compuesto 5 con el sustituyente en posición 5 fue el más activo con una CI_{50} de $0.017\mu\text{g/mL}$, siendo el doble de activo que el metronidazol y 22 veces más eficaz que el albendazol.

Cabe mencionar que a diferencia de lo observado con *G. lamblia*, el compuesto 4 (sustituyente propilsulfinil en posición 5 y/o 6) mostró mayor actividad que el compuesto 6, con sustituyente en posición 6.

Al comparar la actividad anti-*T. vaginalis* del grupo A y B, resulta evidente que la oxidación del grupo propilsulfenil en posición 5 (compuesto 5) le confirió una mejor actividad a la molécula.

Lo contrario se observó con el compuesto 4, el cuál perdió actividad con respecto al compuesto 1. En el caso de los compuestos 3 y 6, no se observaron diferencias importantes.

El análisis de la actividad biológica del grupo C mostró, al igual que en el caso de *G. lamblia*, una actividad baja, siendo el compuesto 8 (con sustituyente trifluorometilo en 5) el que presentó la menor actividad.

En términos generales contra *T. vaginalis* los compuestos 1 y 2 son más activos que el albendazol, indicando que el trifluorometilo en posición 2 en lugar del carbamato confiere por un lado mayor actividad a la molécula y por otro lado, que la adición del grupo metilo en posición 1 y del sustituyente propilsulfenil en posición 5 aumenta 4.5 veces la actividad del compuesto 2 con respecto al compuesto 1 y 6.8 veces en relación al albendazol.

Además si el radical propilsulfenil se oxida en posición 5 (compuesto 5) la actividad antiparasitaria se aumenta 22 veces con respecto al albendazol.

Es de notarse que en el caso de *G. lamblia* también el compuesto 2 fue activo, sólo que en este caso no resultó mejor que el albendazol pero si fue 10 veces más activo que el metronidazol pero la oxidación del sustituyente propilsulfenil (compuesto 5) redujo la actividad de la molécula.

Estos ensayos resaltan el hecho de que un mismo compuesto pueda tener diferente efecto en dos protozoarios anaerobios. Por lo anterior sería de interés estudiar el mecanismo de acción del compuesto 2 en *G. lamblia* y *T. vaginalis*.

Así mismo se pone de manifiesto que el tener el sustituyente trifluorometilo en posición 5 le resta actividad a la molécula.

Es de interés mencionar que otras moléculas 1-trifluorometilbencimidazoles previamente reportadas por Navarrete y colaboradores (2001), tuvieron buena actividad contra *G. lamblia*, sin embargo, al incluir el trifluorometilo en posición 5 y/o 6 disminuyó de una manera considerable la actividad antiprotozoaria de la molécula, lo que puede deberse al efecto estérico en las mismas.

Con estos resultados también se llevó a cabo el mismo análisis de relación estructura-actividad a partir de los descriptores obtenidos en Pc Spartan.

Al llevar a cabo la correlación para los nueve compuestos contra *T. Vaginalis* no se encontró una relación óptima entre los descriptores y la actividad biológica.

En el grupo A se encontró buena relación del Log CI_{50} con el Homo con una $r = 0.9256$, la misma relación se encontró con el lumo con una $r = 0.9607$, electronegatividad con $r = 0.9478$, dureza con $r = 0.9681$; además hubo buena relación de $1/ CI_{50}$ y el Log P (Villar-PM3) con una $r = 0.9062$.

En el grupo B se encontró también buena correlación con la dureza, el lomo y Log P (Villar-PM3) de los compuestos con el Log1/ CI₅₀ con unas $r = 0.7098$, $r = 0.8865$ y $r = 0.7399$, respectivamente.

En el grupo C se encontró buena relación con el Homo $r = 0.9285$, lomo $r = 0.9054$, electronegatividad $r = 0.9179$, dureza $r = 0.9918$, log P (Dixon) $r = 0.8306$ y el Log P(villar-PM3) con una $r = 0.999$.

IX. CONCLUSIONES

La actividad biológica de los compuestos depende de los tipos de sustituyentes en posición 5 ó 6 del anillo bencimidazólico, así como del parásito en que se evaluaron en este caso *G. lamblia* y *T. vaginalis*.

La hipótesis planteada sólo se cumplió parcialmente para la especie de *T. vaginalis* en el caso de los compuestos: 1 que es el 5(6)-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol, 2 (1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol), y 5 (1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol). En el caso de *G. lamblia* los 9 compuestos nuevos no fueron más activos que el albendazol.

El compuesto más activo para *T. vaginalis* fue el compuesto 5 (1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol) con una $CI_{50}=0.017\mu\text{g/mL}$ siendo 22 veces más activo que el albendazol con una $CI_{50}=0.378\mu\text{g/mL}$ y el doble que el metronidazol con una $CI_{50}=0.034\mu\text{g/mL}$.

El compuesto 2 (1-metil-5-propilsulfenil-2-trifluorometilbencimidazol) fue el más activo contra *G. lamblia* con una $CI_{50}=0.021\mu\text{g/mL}$ siendo la mitad de activo que el albendazol con una $CI_{50}=0.010\mu\text{g/mL}$, pero 11 veces más efectivo que el metronidazol con una $CI_{50}=0.249\mu\text{g/mL}$.

La relación estructura actividad se ve afectada por el tipo de moléculas que se toman en cuenta para encontrar un coeficiente de correlación óptimo, por lo tanto los compuestos deben ser estructuralmente similares.

El grado de dependencia de la relación entre dos variables, en este caso la concentración inhibitoria cincuenta y los descriptores moleculares se ve reflejado por el coeficiente de correlación (r) y determinación (r^2) por lo que la actividad biológica de los compuestos se encuentra relacionada con la tendencia de algunos descriptores moleculares como el Homo, Lumo, dureza, electronegatividad y el Log P.

Para encontrar una correlación estadísticamente significativa el número de moléculas estructuralmente similares debe ser mayor, por lo que se propone sintetizar y probar la actividad de más derivados; para correlacionarlos con los descriptores estéricos, electrónicos y lipofílicos.

Se deben probar los compuestos que resultaron con buena actividad antiprotozoaria contra cepas resistentes de *T. vaginalis* y *G. lamblia* al albendazol y al metronidazol, para contribuir en el avance por encontrar una alternativa al tratamiento de ambas parasitosis, y posteriormente de ser posible realizar estudios "in vivo".

X. BIBLIOGRAFIA

ADAM D,Rodney. "The biology of *Giardia*". Microbiological Reviews. 55(4).
Diciembre. 1991: p.p706-732.

AVENDAÑO López. "Introducción a la Química Farmacéutica" Interamericana Mc.
Graw Hill, 1993: p.p73-82.

BAINES, R.D. "Zoología de los invertebrados". Edit. Interamericana. 4a.edición.
México. 1986: p.p82

BOREHAM P, Phillips R.E,Shepherd R.W. "Altered uptake of metronidazole "*in vitro*" by stock of *Giardia intestinalis* with different drug sensitivities". Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene. 82; 1988:p.p104-106

CEDILLO, Roberto, Chavez B, González A, Tapia A y Yépez L.. " "*In vitro*" effect of nitazoxanide against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* and *Trichomas vaginalis* trophozoites". J.Eukaryot.Microbiol. 49(3); 2002.:p.p201-208

CEDILLO, Roberto, Rivera y Muñoz,O. " "*In vitro*" susceptibility of *Giardia lamblia* to albendazole, mebendazole and other chemotherapeutic agents". J.Med.Microbiol. 32(1);Enero.1988: p.p 144-146

CHAVEZ Bibiana, Cedillo R, Martínez, A. "*Giardia lamblia*: ultrastructural study of the "*in vitro*" effect of benzimidazoles". Journal Protozool. 39(4) ;1992:p.510-515

CHAVEZ Bibiana, Espinosa M, Cedillo R, Ramirez A, Martínez A. "Effects of albendazole on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* trophozoites". Archives of Medical Research. 23(2); 1992: p.p 63-67

CHESTER Beaver, Paul, y Clifton Jung R. Parasitología Clínica. JGH editores, México,1988. p.p 52-60

FINNEY D,L "Probit análisis" Cambridge Univ Press, New York, 1977: p.p20-39

GARDNER B, Timothy y Hill R, David. "Treatment of Giardiasis". Clinical Microbiology Reviews. 14(1); Enero 2001: p.p 114-128

GOODMAN Gilman,Alfred. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Mc Graw Hill Interamericana, México,1996:p.p 1077-1079.

GOTTSCHALL D.W, Theodorides V.J y Wang, R "The metabolism of Benzimidazole Anthelmintics" Parasitology Today. 6(4) ;1990: p.p115-124

HOMAN Wieger y Mank Theo. "Human *giardiasis*: genotype linked differences in clinical symptomatology". International Journal for Parasitology.31;2001:p.p822-

HORTON R.J, "Benzimidazoles in a Wormy World" Parasitology Today 6(4).
1990:p.p106

KATIYAR S.K, y Gordon V.R, McLaughlin G:L y Edlind T. "Antiprotozoal activities of benzimidazoles and correlations with beta-tubulin sequence" Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 38(9) Septiembre;1994:p.p2086-2090

KEISTER B. ,David. Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile "Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene .77(4); 1983:p.p487-488

LACEY, E. "Mode of Action of Benzimidazoles" Parasitology Today. 6(4);
1990:p.p112-124

LACEY, E. "The Role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles" International Journal for Parasitology 18(7); 1988:p.p885-936

MEYER A., Ernest "Giardiasis" Elsevier Science Publishers B.N (Biomedical División) 1990 p.p51-60

MORGAN U.M, Reynoldson J.A, y Thompson R.C.A. "Activities of several benzimidazoles and tubulin inhibitors against *Giardia spp.*" *In vitro*." Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 37(2) Febrero;1993:p.p328-331

NASH E, Theodore y Ohi C, Thomas E, Subramanian G, Keiser P y Moore T. "Treatment of patients with refractory *giardiasis*" CID. 33 ;Julio 2001:p.p22-27

NAVARRETE Vázquez, Gabriel Cedillo R, Hernández A, Yépez L, Francisco L, Valdez J, et al "Synthesis and Antiparasitic activity of 2-(Trifluoromethyl)-Benzimidazole derivatives". Biorganic and Medicinal Chemistry Letters. 11; 2001: p.p187-190

OULLETTE, M Bors,P. "New mechanisms of drug resistance in parasitic protozoa" Annu Rev. Microbiol. 49; 1995: p.p 427-460

PETRIN, Dino y Delgaty K, Bhatt R y Garber G. "Clinical and Microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*" Clinical Microbiology Reviews 11(2); Abril 1998 p.p300-317

PONCE Macotela, Martha, Gómez, J, González A, Reynoso R, Anislado V y Martínez M."Determinación *in vitro* de la susceptibilidad a la nitazoxanida de cuatro aislados de *Giardia duodenalis* obtenidos de diferentes huéspedes". La revista de investigación clínica. 53(1) ;Enero-Febrero2001:p.p41-45

SEARS S,D y O'Hare,J. "In vitro" susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to 50 antimicrobial agents" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Enero.1988.: p.p144-146

SHARMA, Satyavan "Design of new drug for helminth diseases: lead optimization in benzimidazoles" Advances in Drug Research .25 ;Marzo 1997:p.p104-131

THOMPSON R, Reynoldson J.A, y Lymberry A. "Giardia : From Molecules to Disease " CAB International. Great Britain; 1994: p.p5-6

THOMPSON, Andrew "*Giardiasis* as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential" International Journal for Parasitology. 30; 2000: p.p1259-1267

TOWNSEND L.B y Wise D.S. "The synthesis and Chemistry of certain anthelmintic benzimidazoles" Parasitology Today .6(4) ;1990 :p.p107-112

TOWNSON, Steven y Laqua H, Upcroft P, Boreham P y Upcroft J. "Induction of metronidazole and furazolidone resistance in *Giardia*" Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene. 86;1992: p.p521-522

UPCROFT, Jaqueline y Upcroft Peter. "Drug Resistance and *Giardia*". Parasitology Today .9(5);1993: p.p190

UPCROFT, Peter y Upcroft Jacqueline. "Drug Targets and Mechanisms of Resistance in the anaerobic protozoa". Clinical Microbiology Reviews. 14(1) Enero2001:p.p150-164

UPCROFT, Peter. "Drug resistance in *Giardia*: clinical versus laboratory isolates" Drug Resistance Updates.1;1998: p.p166-168

Vademecum Farmacéutico ipe digital. 9a.edición. Reza editores.2000

VALDEZ, Juan y Cedillo R,Hernández A, Yépez L, Hernández F, etal. "Synthesis and Antiparasitic activity of 1H-Benzimidazole derivaties" Biorganic and Medicinal Chemistry Letters. 12; 2002: p.p2221-2224

WALIER P,J. "Resistance in Nematode Parasites of Livestock to the Benzimidazole Anthelmintics". Parasitology Today. 1990:p.p127-129

WEN H y Muhmut M, Wang J, Wang I, Zhang J, Shao Y y Craig P. "Pharmacology and efficacy of liposome-entrapped albendazol in experimental secondary alveolar echinococcosis and effect of co-administration with cimetidine" Parasitology. 113; 1996: p.p111-121

WOLFE S,Martin. "*Giardiasis*". Clinical Microbiology Reviews. 5(1) Enero1992:p.p93-100

ZILVERMAN B, Richard "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action Academic Press" Inc 1992: p.p9-35.

ZUO, Yuting y Riley D, Krieger J. "Flagellar duplication and migration during the *Trichomonas vaginalis* cell cycle" J.Med.Microbiol. 37; 1992: p.p221-224