

Síntesis de 8-aminoalquil -2- estirilquinolinas para el tratamiento de la leishmaniasis

Javier Arroyo Ródenas

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad
Complutense. 28040 Madrid.
javierarroyorodenas@gmail.com

Tutores

Matteo Staderini. José Carlos Menéndez.

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad
Complutense. 28040 Madrid.
josecm@farm.ucm.es

Resumen: La leishmaniasis es una enfermedad de áreas tropicales y subtropicales causada por protozoos parásitos intracelulares del género *Leishmania* y transmitida por vectores hematófagos de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*. Causa lesiones desfigurantes de gravedad variable y presenta una alta tasa de mortalidad. Debido a la alta toxicidad de los tratamientos tradicionales (derivados de antimonio, anfotericina B, pentamidina, miltefosina y paromomicina, el desarrollo de nuevas moléculas más efectivas y menos tóxicas es un reto considerable. Entre las moléculas más activas cabe destacar la sitamaquina, un derivado de 8-aminoquinolina cuyo mecanismo de acción es poco conocido. Por otra parte, algunos derivados de 2-estirilquinolina han demostrado una potente actividad contra las formas promastigote y amastigote de *L. donovani*. Además, gracias a la fluorescencia del núcleo de estirilquinolina, estas moléculas se pueden estudiar por microscopía confocal para localizar la diana biológica y elucidar el mecanismo de acción. Estos antecedentes nos han llevado a diseñar una nueva serie de compuestos que combinan la estructura de la sitamaquina con la presencia de sustituyentes estirilo en la posición 2 de la quinolina, con el fin de obtener compuestos con una elevada probabilidad de presentar actividad biológica y que nos permitan estudiar sus mecanismos farmacológicos utilizando técnicas de fluorescencia. Su síntesis se ha planteado partiendo de la 8-amino-2-estirilquinolina.

Palabras clave: leishmaniasis. 8-amino-2-estirilquinolinas. Fluorescencia. Mecanismo de acción.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad de áreas tropicales y subtropicales causada

por protozoos parásitos intracelulares del género *Leishmania* y transmitida por vectores hematófagos de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*. Hoy en día, 12 millones de personas sufren esta enfermedad en todo el mundo, con una incidencia de aproximadamente 2 millones de nuevos casos al año⁽¹⁾. Se pueden desarrollar cuatro formas clínicas de la enfermedad: cutánea, mucocutánea, ulcerosa y visceral, causadas por *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. mexicana* y *L. donovani*, respectivamente. En las tres primeras formas, los parásitos invaden tejidos cutáneos de diferentes partes del cuerpo, causando lesiones desfigurantes de gravedad variable. En la forma visceral de esta enfermedad, los protozoos invaden el interior de los fagocitos de hígado, bazo y médula ósea, lo que provoca generalmente la muerte del paciente^(1,2).

Actualmente existen diversos tratamientos efectivos frente al parásito: derivados pentavalentes de antimonio, anfotericina B, pentamidina, miltefosina y paromomicina⁽¹⁾. Estos compuestos presentan una eficacia limitada, su toxicidad sobre el huésped es elevada y existe un serio problema con la aparición de resistencias⁽³⁾, por lo que puede considerarse crucial el desarrollo de nuevas moléculas activas frente al parásito.

Distintos estudios han demostrado la eficacia de los derivados de 8-aminoquinolina frente a *L. donovani* y *L. tropica* en hámsters, así como su menor toxicidad en comparación con la anfotericina B y otros compuestos^(2,4). En concreto, resultan especialmente activos los derivados de (6-metoxi-4-metil-8-quinolinil)-1,6-hexanodiamina, a los que se les puede introducir diversas cadenas laterales sobre la amina en posición 6⁽²⁾ (Fig. 1).

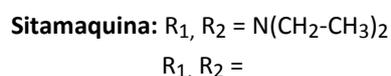


Figura 1. La sitamaquina, una de las moléculas antileishmania más eficaces que se conocen.

Entre las moléculas más activas de esta familia destaca la sitamaquina. No se conoce bien el mecanismo por el cual la sitamaquina provoca la muerte de los promastigotes de *L. donovani*, pero se sabe que su entrada en el interior de los parásitos se produce por difusión pasiva (no dependiente de ATP) gracias a las interacciones de los grupos amino protonados con las cabezas polares aniónicas y de los dos anillos aromáticos de dicho fármaco con las largas cadenas lipófilas de los fosfolípidos que constituyen la membrana celular de estos parásitos^(5,6). Además, se ha demostrado que la sitamaquina bloquea la cadena respiratoria de tipo II del parásito por inhibición de la succinato deshidrogenasa, lo que puede causar la muerte de éste por estrés oxidativo⁽⁷⁾. Un conocimiento más detallado de dicho mecanismo debería permitir el diseño de compuestos más activos y selectivos frente al parásito. Por otra parte, algunos derivados de 2-estirilquinolina han demostrado una potente actividad contra la forma amastigote de *L. donovani*⁽⁸⁾, y nuestro grupo de investigación ha estudiado una serie de derivados de 2-estirilquinolina con cadenas

poliamínicas en posición 4, que resultaron muy activos frente a la forma promastigote de *L. donovani*. Además, gracias a la fluorescencia del núcleo de estililquinolina, estas moléculas se pueden localizar dentro del protozoo por microscopía confocal para localizar la diana biológica y elucidar el mecanismo de acción.

OBJETIVOS

Estos antecedentes nos han llevado a diseñar una nueva serie que combina la estructura de la sitamaquina con la presencia de sustituyentes estililo en la posición 2 de la quinolina, con el fin de obtener compuestos con una elevada probabilidad de presentar actividad biológica y que nos permitan estudiar sus mecanismos farmacológicos utilizando técnicas de fluorescencia. Para ello, planteamos la ruta sintética resumida en la figura 2. A continuación se comentan con más detalle sus etapas.

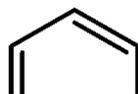


Figura 2. Esquema de síntesis de derivados de 8-amino-2-estirilquinolinas.

Reacción de Povarov

El primer paso fue la síntesis de la 2-metilquinolina. A través de la reacción de Povarov se obtuvo la 4-etoxi-2-metil-tetrahydroquinolina mediante el ataque de la anilina a una molécula de etil vinil éter para dar la correspondiente imina, que a continuación experimenta un proceso de tipo imino Diels-Alder en el que una segunda molécula el vinil éter actúa como dienófilo. El nitrato cérico amónico (CAN) actúa como catalizador de la reacción al aumentar la electrofilia del nitrógeno de la anilina (Fig. 3)⁽⁹⁾. Tras una hora de reacción y la purificación por cromatografía en columna, se obtuvo el derivado de tetrahydroquinolina deseado con un rendimiento del 78 %.

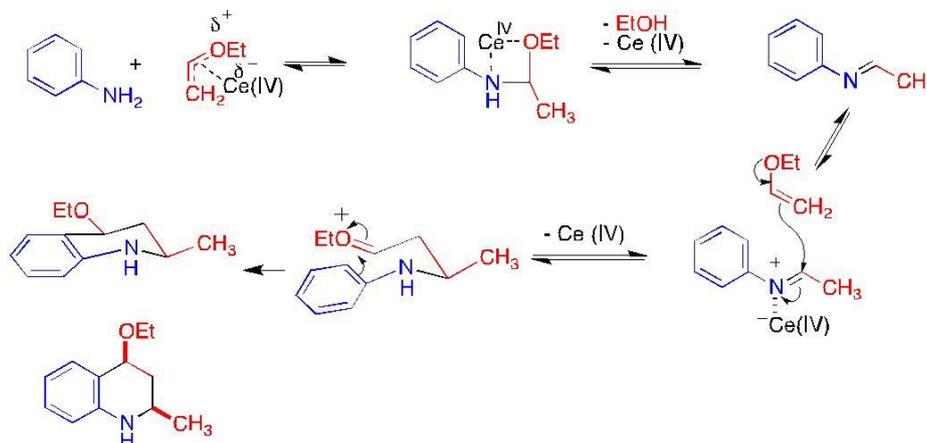


Figura 3. Mecanismo de la síntesis de la *cis*-4-etoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina mediante una reacción de Povarov.

Aromatización (Fig. 4)

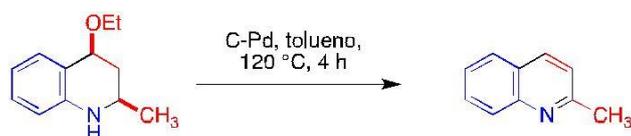


Figura 4. Síntesis de 2-metilquinolina (quinaldina).

Para aromatizar la 4-etoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina se disuelve este compuesto en tolueno y, en presencia de Pd/C, se calienta a reflujo durante 4 horas. A continuación, se elimina el catalizador por filtración a través de celita y se purifica el producto mediante una cromatografía en columna con un rendimiento del 82%.

Nitración (Fig. 5)

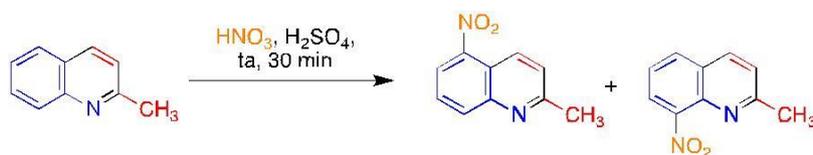


Figura 5. Quinaldine nitration.

Para nitrar la quinolina se utilizó una mezcla de ácido nítrico-ácido sulfúrico (3:6) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Al añadir agua y hielo, se obtiene un precipitado que se filtra y, mediante una cromatografía en columna, se separan los dos isómeros obtenidos (8-nitroquinaldina y 5-nitroquinaldina) con un rendimiento del 54 y 46%, respectivamente.

El siguiente paso consiste en una condensación entre la 8-nitroquinaldina y el benzaldehído para obtener la 8-nitro-2-estirilquinolina. En todas las reacciones con bases fuertes (terbutóxido de potasio e hidruro de sodio), el compuesto de partida se ha degradado (a reflujo) o no ha reaccionado (a temperatura ambiente). Tampoco se han conseguido resultados con catalizadores ácidos (ácido acético). Únicamente se ha obtenido el producto deseado tratando la 8-nitroquinaldina con benzaldehído en presencia de anhídrido acético en un microondas focalizado a 180 °C durante una hora, pero el rendimiento ha sido sólo moderado (20%). Por ello, actualmente todavía se está trabajando para poner a punto este paso de la síntesis.

CONCLUSIÓN

Se ha planteado la síntesis de nuevos análogos de la sitamaquina y se han puesto a punto las etapas iniciales de la ruta sintética propuesta. Una vez finalizado el trabajo,

estos derivados serán ensayados en células amastigote y promastigote de *L. donovani* en el instituto de Investigaciones Biológicas del CSIC bajo la dirección del prof. Luis Rivas.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Monzote, Current Treatment of Leishmaniasis: a Review, *The Open Antimicrobial Agents Journal*. 2009, 1, 9-19.
2. J.L. Johnson y L.M. Werbel, Synthesis and Antileishmanial Activity of 6-Methoxy-4-methyl-N-[6-(substituted-1-piperazinyl)hexyl]-8-quinolinamines and Related Compounds. *J. Med. Chem.* 1983, 26(2), 185-194.
3. S. L. Croft, S. Sundar, A. H. Fairlamb. Drug Resistance in Leishmaniasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006, 19, 111–126.
4. P.M. Loiseau, S. Gupta, A. Verma, S. Srivastava, S.K. Puri, F. Sliman, M. Normand-Bayle, D. Desmaele. In vitro activities of new 2-substituted quinolines against *Leishmania donovani*. *Antimicrob Agents Ch.* 2011, 55(4), 1777-1780.
5. P.M. Loiseau, S. Cojean, J. Schrével, Sitamaquine as a Putative Drug Candidate: From the Mechanism of Action to the Risk of Drug Resistance. *Parasite* 2011, 18, 115-119.
6. E. S. Coimbra, D. Libong, S. Cojean, M. Saint-Pierre-Chazalet, A. Solgadi, L. Le Moyec, A. M. Dueñas-Romero, P. Chaminade, P. M. Loiseau, Mechanism of interaction of sitamaquine with *Leishmania donovani*. *J. Antimicrob. Ch.* 2010, 65, 2548–2555.
7. L. Carvalho, J. R. Luque-Ortega, C. López-Martín, S. Castanys, L. Rivas, F. Gamarro. The 8-Aminoquinoline Analogue Sitamaquine Causes Oxidative Stress in *Leishmania donovani* Promastigotes by Targeting Succinate Dehydrogenase. *Antimicrob. Agents Ch.* 2011, 55, 4204–4210.
8. Normand-Bayle, D. Desmaele. In Vitro Activities of New 2-Substituted Quinolines Against *Leishmania donovani*. *Antimicrob. Agents Ch.* 2011, 55, 1777–1780.

9. V. Sridharan, C. Avendaño, J. C. Menéndez. New Findings on the Cerium (IV) Ammonium Nitrate Catalyzed Povarov Reaction: Stereoselective Synthesis of 4-Alkoxy-2-aryl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline Derivatives. *Synthesis* 2008, 1039–1044.

Recibido: 17 marzo 2014.

Aceptado: 26 abril 2014.