



BÚSQUEDA DE CABEZAS DE SERIE BASADOS EN PRODUCTOS NATURALES MARINOS

Autor

Jose Hernández Chiquillo

Tutores

Dr. José Javier Fernández Castro

Dra. Ana R. Díaz Marrero

Índice

Resumen/Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
2. Objetivo.....	6
3. Materiales y métodos.....	7
3.1 <i>Generales</i>	7
3.2 <i>Técnicas cromatográficas</i>	7
3.3 <i>Experimentos de Resonancia Magnética Nuclear</i>	8
3.4 <i>Espectroscopía de masas</i>	9
4. Discusión y Resultados.....	10
4.1 <i>Alquilación de Friedel-Crafts. Formación del (2,5-dimetoxi-4-metilfenil)-cicloheptano</i>	12
4.2 <i>Desprotección de los grupos metoxilo. Obtención del compuesto A (2-cicloheptil-5-metilciclohexa-2,5-dieno-1.4-diona) y compuesto B (2-cicloheptil-6-metilciclohexa-2,5-dieno-1.4-diona)</i>	12
4.3 <i>Purificación</i>	13
4.4 <i>Elucidación estructural de compuesto A</i>	13
4.5 <i>Elucidación estructural de compuesto B</i>	19
4.6 <i>Actividad biológica antiparasitaria</i>	20
5. Conclusiones.....	21
6. Bibliografía.....	22

Resumen

En este trabajo se describe la síntesis, purificación y la consecuente evaluación biológica de dos quinonas sustituidas inspiradas en la estructura de sesquiterpenos oxidados presentes naturalmente en el alga roja *Laurencia jonthonii*, endémica de la costa de Baja California Sur, México.

A través de una estrategia sintética sencilla, partiendo de reactivos comerciales y en dos pasos de reacción, se obtuvieron los compuestos A y B, dos isómeros de posición que mostraron actividad frente a los parásitos kinetoplástidos *Leishmania amazonensis* y *L. donovani* y citotoxicidad aceptable.

La estructura química de los compuestos A y B se confirmó mediante análisis de experimentos de resonancia magnética nuclear mono y bidimensionales y espectroscopía de masas.

Abstract

This work describes the synthesis, purification and subsequent biological evaluation of two substituted quinones inspired on the structure of oxidized sesquiterpenes naturally present in the red alga *Laurencia jonthonii*, endemic to the coast of Baja California Sur, Mexico.

Through a simple synthetic strategy, starting from commercial reagents and in two reaction steps, compounds A and B were obtained, two positional isomers that showed activity against the kinetoplastid parasites *Leishmania amazonensis* and *L. donovani* and acceptable cytotoxicity.

The chemical structure of compounds A and B was confirmed by analysis of one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance experiments and mass spectroscopy.

1. Introducción

Las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) son un grupo de 20 enfermedades causadas por agentes patógenos (virus, parásitos y bacterias), transmitidas por vectores principalmente. Afectan fundamentalmente a poblaciones empobrecidas y se destinan pocos recursos para su lucha¹. Entre ellas se encuentra la leishmaniasis, con más de 12 millones de personas infectadas a nivel mundial, ocasionando de 0.9 a 1.6 millones de nuevos casos al año, entre 20.000 y 30.000 defunciones y 350 millones de personas a riesgo de infectarse². Es una enfermedad causada por un parásito intracelular del género *Leishmania sp.* transmitido por la picadura de mosca de la arena, principalmente *Phlebotomus* y *Lutzomyia* (Europa, norte de África Oriente Medio, Asia y parte de Sudamérica)³.

Actualmente la quimioterapia para su tratamiento se basa en el uso de compuestos antimoniales pentavalentes. El estibogluconato de sodio (1) y el Pentostam® o antimoniato de meglumina (2) son fármacos de primera elección para la mayoría de los países⁴. Otros tratamientos alternativos son la miltefosina, el isetionato de pentamidina, la anfotericina B, los antifúngicos azoles (p. ej., ketoconazol, fluconazol, itraconazol), la paromomicina, el factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos y la termoterapia o crioterapia (estos dos últimos en leishmaniasis cutánea)⁵. Estos fármacos presentan importantes limitaciones, entre ellas mala absorción, elevada toxicidad y falta de eficacia. La aparición de resistencias ha provocado el aumento de la duración de los tratamientos y con ello una falta de adherencia^{6,7}.

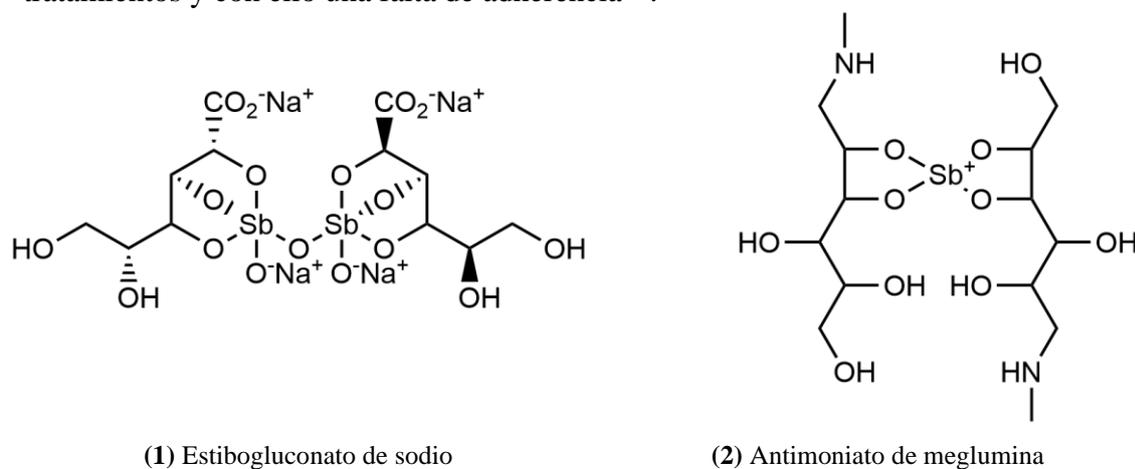


Figura 1. Tratamientos de primera línea frente a leishmaniasis. (1) Estibogluconato de sodio y (2) antimoniato de meglumina.

Los productos naturales derivados de plantas han sido investigados ampliamente por su potencial frente a *Leishmania*⁸. En los últimos años se ha producido creciente interés en el descubrimiento de productos naturales procedentes del medio marino donde encontrar moléculas bioactivas novedosa⁹. Una gran variedad de compuestos como alcaloides, terpenos y terpenoides, quinonas, macrólidos y lactonas procedentes de fuentes naturales marinas han mostrado una buena actividad frente a *Leishmania*^{7,10-13}.

De ellos, las quinonas destacan por su abundancia en la naturaleza; su facilidad de síntesis, su estructura simple y su gran diversidad han provocado un interés creciente por explorar su potencial como alternativas terapéuticas para la leishmaniasis¹⁴. Son compuestos que se forman de la oxidación de compuestos aromáticos para dar la correspondiente dicetona. De acuerdo con su grado de complejidad química se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas y antraquinonas¹⁵. Su actividad antimicrobiana frente a *Leishmania* se ha atribuido en parte a la producción de especies activas de oxígeno que inducen mecanismos pro-apoptóticos¹⁶, además de otras características como ser agentes intercalantes de ADN y alquiladores reductores de biomoléculas¹⁴.

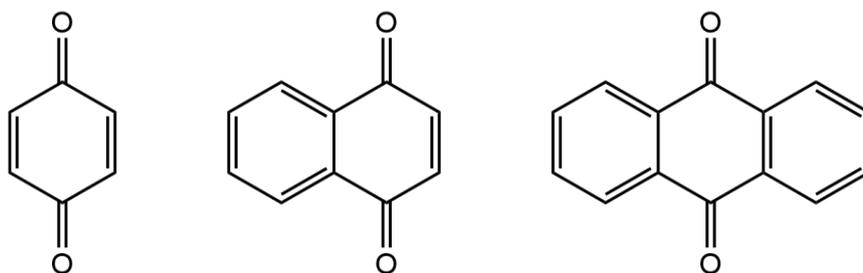


Figura. 2. Estructura de quinonas. Benzoquinona, naftoquinona y antroquinona.

Las especies de algas rojas del género *Laurencia* producen una asombrosa variedad de metabolitos secundarios estructuralmente inusuales y parecen ser una fuente inagotable de nuevos componentes químicos¹⁷, predominantemente con estructuras de sesquiterpenos, diterpenos y C15 no terpenoides halogenados. Estos metabolitos secundarios han demostrado tener importantes actividades biológicas, como la antibacteriana, antifúngica, antileishmanial, antitrichomonal, antihelmíntica, antiviral, antipirética, analgésica, antiinflamatoria, antioxidante y anticoagulante^{18,19}.

Este trabajo, desarrollado en el grupo de Productos Marinos de la ULL, parte de un trabajo previo del alga roja *Laurencia johnstonii*, especie endémica del Golfo de California, México. El fraccionamiento bioguiado del extracto del alga permitió aislar una serie de sesquiterpenos bromados (Figura 4) y algunos derivados oxidados, que han mostrado actividad antiparasitaria frente a amebas²⁰ y kinetoplástidos. Además, laurinterol (1) y aplysin (3) mostraron actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*²¹.

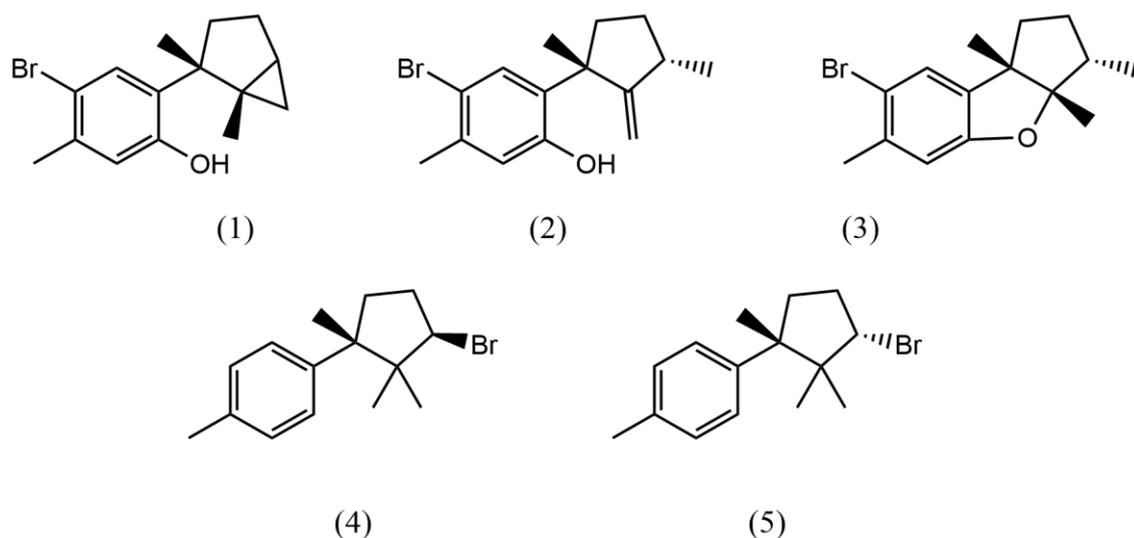


Figura. 3. Sesquiterpenos de *Laurencia johnstonii*. laurinterol (1), isoaurinterol (2), aplysin (3), α -bromocuparano (4) y α -isobromocuparano (5)

Estos resultados abrieron un nuevo enfoque de trabajo donde la estructura los sesquiterpenos naturales ha servido de inspiración para la preparación de nuevas cabezas de serie que puedan ser aplicadas para el tratamiento de la leishmaniasis y es objeto de este trabajo.

2. Objetivo

La importancia de los productos naturales no se debe únicamente su actividad biológica, sino a que sirven de modelo para la síntesis y desarrollo de otros compuestos.

En base a esta premisa, se plantea el siguiente objetivo:

- Obtener nuevas moléculas sintéticas de estructura simple activas frente a la *Leishmania* tomando como modelo la estructura oxidada de los sesquiterpenos presentes en algas del género *Laurencia*, con un coste de producción accesible y carentes de quiralidad.

3. Material y métodos

3.1 Generales

Todos los reactivos y disolventes utilizados en el proceso experimental pertenecían al Grupo de Productos Marinos de la ULL el cual se provee de la empresa *Sigma-Aldrich*®. El material de laboratorio usado ha sido el natural a un laboratorio de química orgánica.

3.2 Técnicas cromatográficas

Cromatografía de capa fina (TLC):

Esta técnica fue utilizada para monitorizar el curso de las reacciones y los procesos cromatográficos para la purificación de los compuestos.

Se utilizaron cromatofolios de gel de sílice 20 x 20 cm de la marca *Analytical Chromatography* y se visualizaron primero bajo luz ultravioleta (UV) con una lámpara *Spretoline* ® *Model CM-10* a 254 nm. Para el revelado se usó cloruro de cobalto (II), (CoCl₂) al 2% en ácido sulfúrico (H₂SO₄) y calor.

Cromatografía en columna abierta:

Se utilizó para separar y purificar los productos de reacción. Para ello se utilizó dióxido de silicio (SiO₂) 60 G (marca Merck®) como fase estacionaria y una fase móvil de *n*-Hexano:Acetato de etilo (*n*-Hex:AcOEt) en proporciones entre 99:1 y 97:3 97:3.

Las medidas de las columnas preparadas fueron las siguientes:

- Columna de 3 cm de diámetro (Ø) x 15 cm. SiO₂ 35-70 mesh.
- Columna de 2.5 cm Ø x 13 cm SiO₂ 230 – 400 mesh.

Cromatografía *flash*:

Se utilizó una columna preempaquetada de la casa *Götec*® con las siguientes características:

- 10 g de Si60 de 15-40 µm de Ø.
- Volumen total = 15 mL.
- Presión máxima 10 bar.
- Flujo máximo 18 mL/min.

Las condiciones experimentales fueron las siguientes:

- Volumen de disolución de la muestra: 775 μ L.
- Tiempo total de elución: 18 min. y 15 s.
- Flujo de trabajo: 1 mL/min.

Las fracciones se recogieron de forma automática con un colector de fracciones GIBSON® FC203B. La bomba peristáltica usada fue el modelo *reglo* de la casa *ismatec*.

High performance liquid chromatography (HPLC)

Por último, se realizó la purificación final de una de las fracciones con el sistema HPLC *Agilent 1260 Infinity Quaternary LC*. El volumen de inyección fue de 200 μ L. La columna utilizada fue de 250 x 10 mm, Luna 5U Silica 100 Å. El sistema de elución y flujo fue el siguiente:

Tiempo (min)	Eluyente (<i>n</i> -Hex:AcOEt)	Flujo (mL/min)
0	99:1	3.000
21	99:1	3.000
51	99:1	1.000
71	95:5	1.000
91	0:100	2.000

3.3 Experimentos de Resonancia Magnética Nuclear

Se realizaron experimentos de espectros monodimensionales (1D) y bidimensionales (2D) utilizando el espectrómetro BRUKER ® AVANCE 500 MHz y 600 MHz equipado con criosonda.

- Experimentos 1D: ^1H y ^{13}C .
- Experimentos 2D: HSQC ed., HMBC.

Todas las muestras se disolvieron en cloroformo deuterado (CDCl_3) el cual fue empleado a su vez como patrón de referencia interno. Los resultados fueron procesados con los programas MestReNova-14.0.0-23239.

3.4 Espectroscopía de masas

Se utilizó un espectrómetro *Waters LCT Premier XE Micromass* usando electrospray (ESI) como fuente de ionización en el Servicio de Espectrometría de Masas del Instituto de Productos Naturales y Agrobiología (IPNA) del CSIC.

4. Resultados y Discusión

Con objeto de obtener quinonas basadas en la estructura química de los sesquiterpenos oxidados aislados de *Laurencia jonhstonii*, se propone la síntesis de metilbenzoquinonas sustituidas en dos pasos de reacción, utilizando moléculas comerciales simples (Figura 4).

El primer paso implica una alquilación de Friedel-Crafts. Una alquilación Friedel-Crafts consiste en la sustitución de un anillo aromático por un grupo alquilo utilizando un catalizador de ácido de Lewis fuerte²². Esta reacción pertenece a la categoría de reacciones de sustitución aromática electrofílica. En este caso, la alquilación se realizó sobre 2,5-dimetoxitolueno (Figura 5) utilizando clorocicloheptano (Figura 6) como haluro sustituido en presencia del ácido de Lewis tricloruro de aluminio (AlCl_3). El segundo paso de reacción consiste en la reducción desprotectora de los grupos metoxilos para generar las quinonas por oxidación con óxido de plata II (AgO (II)).

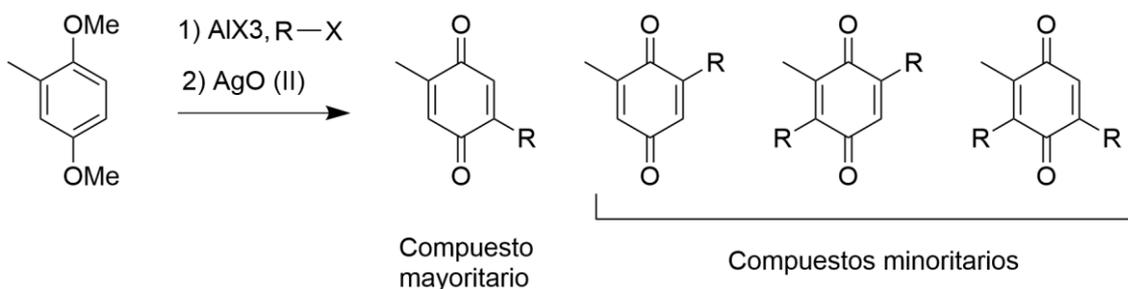


Figura 4. Esquema general de la síntesis de metilbenzoquinonas sustituidas.

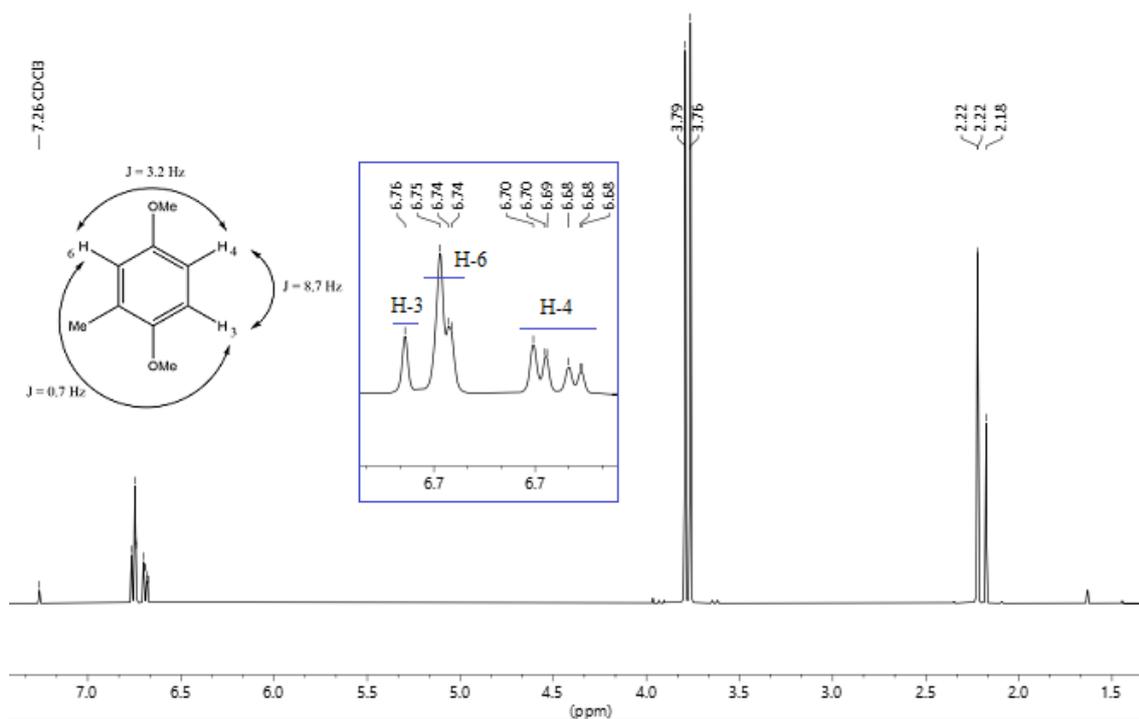


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H de 2,5-dimetoxitolueno (CDCl_3 , 500 MHz, 295 K). Ampliación de la región entre 6.6 y 6.8 ppm cuyas señales pertenecen a los protones aromáticos. Se indica su asignación y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

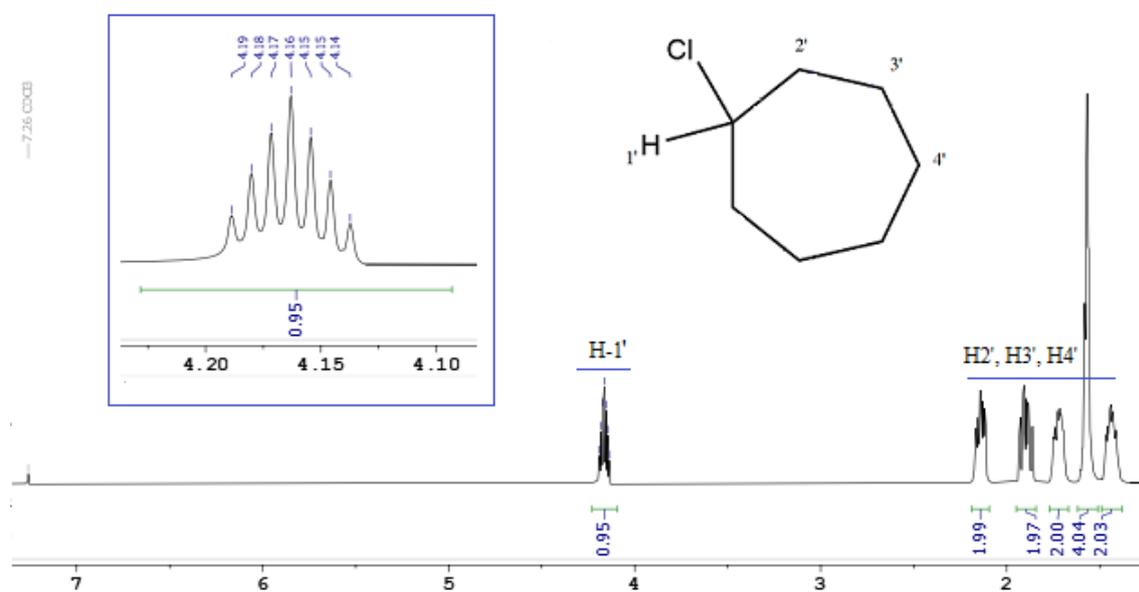


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H del clorocicloheptano (CDCl_3 , 500 MHz, 295 K). Ampliación de la región entre 4.10 y 4.25 ppm y asignación de las señales.

4.1 Alquilación de Friedel-Crafts. Formación del (2,5-dimetoxi-4-metilfenil)-cicloheptano

En condiciones de reacción anhidras, en atmosfera de argón a 0°C en baño de hielo, se añadió de forma sucesiva AlCl₃ (876 mg, 6.57 mmol), nitrometano (1 mL), 2,5-dimetoxitolueno (476 µL, 3.285 mmol) y clorocicloheptano (862 µL, 6.57 mmol). La reacción se mantuvo durante 1 h en agitación magnética. La reacción se detuvo añadiendo 3 mL de agua fría.

A continuación, la fase acuosa se extrajo con éter mediante extracción liquido-liquido, la fase orgánica se secó utilizando sulfato de magnesio anhidro y, por último, se filtró.

La mezcla de reacción se puso en un rotavapor Buchi R-200® a baja presión para eliminar el éter. A continuación, se sometió el producto a fraccionamiento en columna abierta de diámetro 3 cm por 15 cm de longitud. Como eluyente se utilizó una mezcla *n*-Hex:AcOEt (97:3) y como fase estacionaria SiO₂ 35-70 mesh, resultando 7 fracciones principales en base al comportamiento en TLC.

De las 7 fracciones, F2R1 presentó suficientes evidencias en el espectro RMN de ¹H que indicaban la presencia de derivados de (2,5-dimetoxi-4-metilfenil)-cicloheptano, para el segundo paso de la reacción.

El rendimiento de la reacción fue:

- Rendimiento teórico = 0.005256 moles * 1 = 0.005256 moles.
- Rendimiento = 100 * (0.004056/0.005256) = 77%.

4.2 Desprotección de los grupos metoxilo. Obtención del compuesto A (2-cicloheptil-5-metilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona) y compuesto B (2-cicloheptil-6-metilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona)

La fracción F2R1 (300 mg) se disolvió en 4 mL de dioxano y se agregó consecutivamente AgO (1 g, 4.84 mmol) y 2 mL de ácido nítrico (65%). La reacción se mantuvo 10 min a temperatura ambiente y se detuvo con 3 mL de agua fría. Se extrajo con diclorometano mediante extracción liquido-liquido, descartándose la fase acuosa.

A continuación, se procedió a eliminar el disolvente con el rotavapor y se cromatografió en columna abierta de diámetro (2.5 cm x 15 cm). Como fase estacionaria se usó SiO₂

230 – 400 mesh. Como eluyente se utilizó una mezcla de *n*-Hex:AcOEt (97:3) seguido de una proporción *n*-Hex:AcOEt (99:1) para asegurar la elución de los productos de interés.

Se obtuvieron 6 fracciones de las cuales la R2F4 y R2F5 fueron elegidas por contener señales características de quinonas sustituidas en espectros RMN de ¹H.

A partir de 300 mg de peso seco de producto, se obtuvo el siguiente rendimiento:

- Rendimiento teórico = 0.0012 moles * 1 = 0.0012 moles.
- Rendimiento = 100 * (0.000771/0.001200) = 64%.

4.3 Purificación

Las fracciones R2F4 y R2F5 se purificaron por cromatografía *flash* usando la columna de la casa Götec® con las características descritas en el apartado de material y métodos. Como eluyente se usó *n*-Hex:AcOEt (95:5) y el flujo de la bomba peristáltica se estableció a 1 mL/min.

Del fraccionamiento de R2F4 combinamos los tubos 31-35 en una misma fracción por su semejanza en TLC y RMN ¹H. Éstas fueron purificadas en HPLC según se describe en el apartado material y métodos ($t_R = 18.989$ min), dando como resultado un compuesto puro denominado compuesto A.

De la cromatografía *flash* de la fracción R2F5 se obtuvo una única fracción (tubo 46) con la pureza necesaria para poder realizar su espectro de RMN ¹H y confirmar la estructura del compuesto B.

4.4 Elucidación estructural de compuesto A

La estructura del compuesto A, se determinó a partir de experimentos 1D y 2D RMN (600 MHz).

Analizando el espectro de RMN ¹H (Figura 7) observamos la presencia de dos señales a 6.57 δ H y 6.49 δ H, correspondientes a los 2 protones olefínicos, siendo la primera un doblete y la segunda un singlete. La señal correspondiente al desplazamiento químico a campo bajo (6.57 δ H) se corresponde con el H1 ya que se encuentra acoplada con una

señal a δ H 2.02 que integra para 3H, lo que confirma que el metilo se encuentra en el mismo lado del anillo que el H1. Por otra parte, se deduce la presencia de un triplete de triplete a δ H 2.84 (H3) el cual se encuentra acoplado por las señales comprendidas entre 0.8 y 1.8 ppm correspondientes a los metilenos contiguos del anillo de cicloheptano.

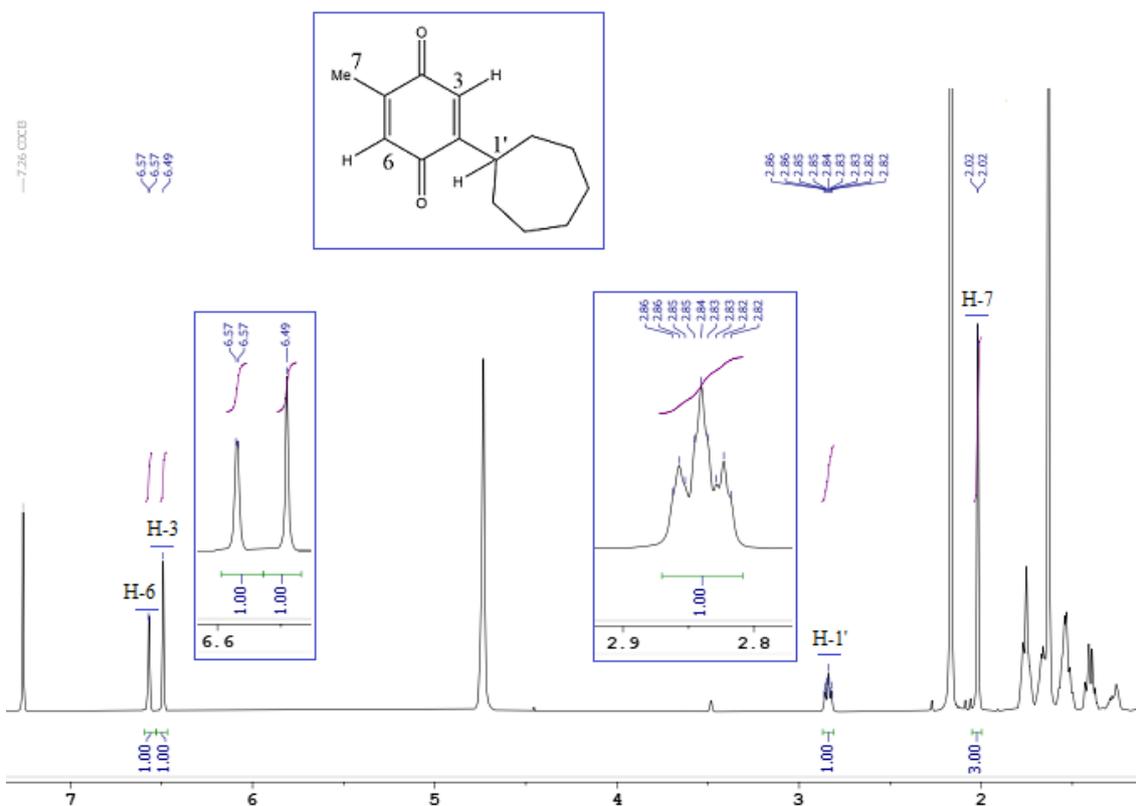


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H de compuesto A (CDCl_3 , 600 MHz, 298 K). Ampliación de las regiones entre 6.6-6.55 ppm y 2.9-2.8 ppm y asignación de las señales más significativas.

Del espectro RMN de ^{13}C del compuesto A (Figura 8) se extrajo la información necesaria para deducir los principales grupos funcionales de la molécula. Así, se pudo confirmar la presencia de los cuatro carbonos sp^2 y los dos carbonos carbonílicos a δ c 187.65 y 188.93 ppm.

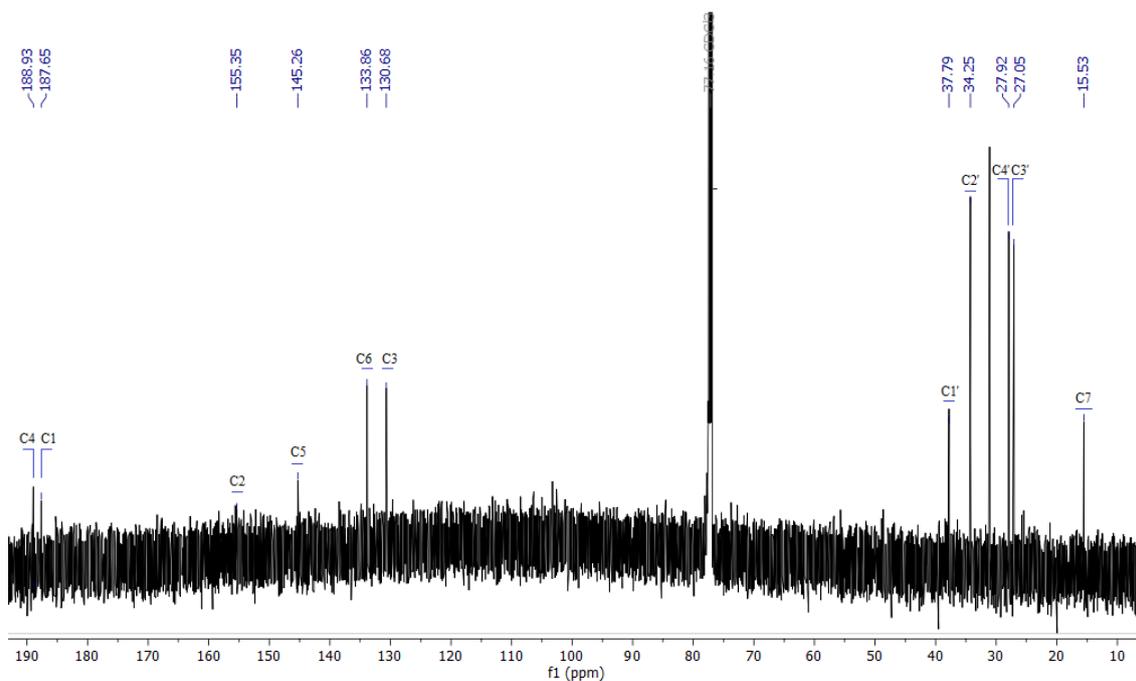


Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C de A (CDCl_3 , 150 MHz, 298 K). Se identifican las señales del espectro.

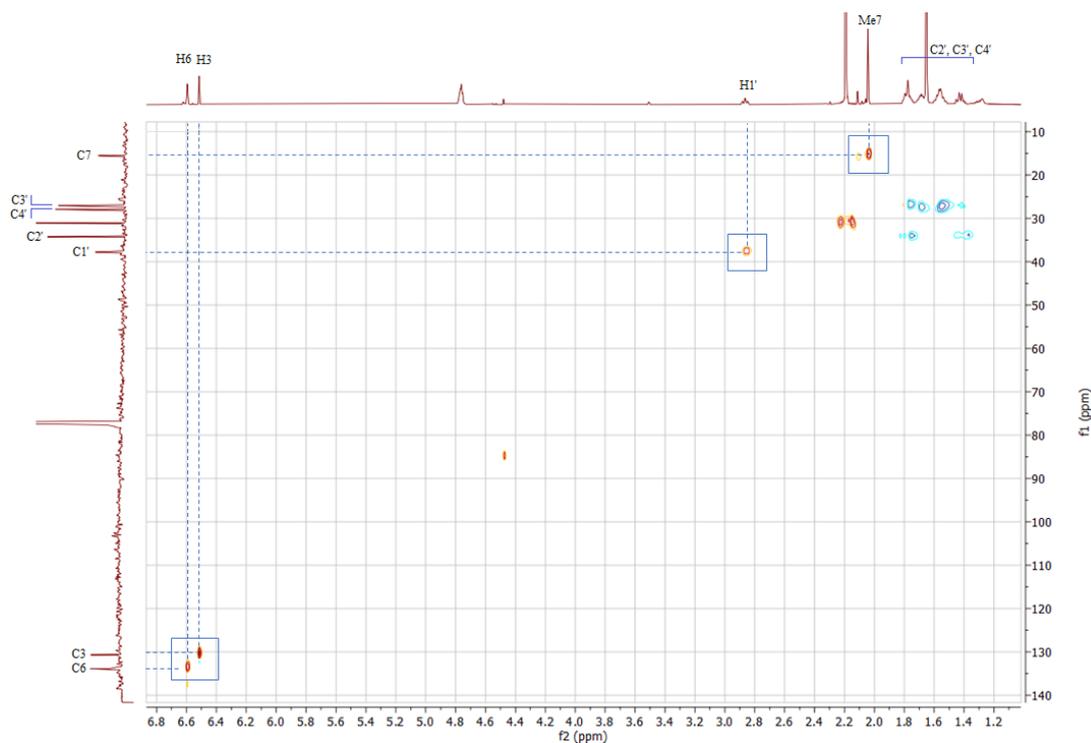


Figura 9. Experimento HSQC del compuesto A (CDCl_3 , 600 MHz, 298 K).

Combinando los datos de los experimentos monodimensionales con los del HSQC se establecieron las correlaciones directas C-H incluyendo las correlaciones de las señales del fragmento de cicloheptano (ampliación no mostrada) (Figura 9, Tabla 1).

Finalmente, para confirmar la posición del anillo de cicloheptano se observaron las correlaciones a dos y tres distancias de enlace en el HMBC. Como se observa en la Figura 10, H1' se correlaciona tanto con C1 como C2 y H2' con C2, mientras que H3 se correlaciona con C1. Se confirmó, de esta manera, la unión de C2 a C1'. Usando la misma estrategia determinamos la unión del grupo metilo observando sus correlaciones con C4, C5 y C6. Se muestran las correlaciones en la Figura 11.

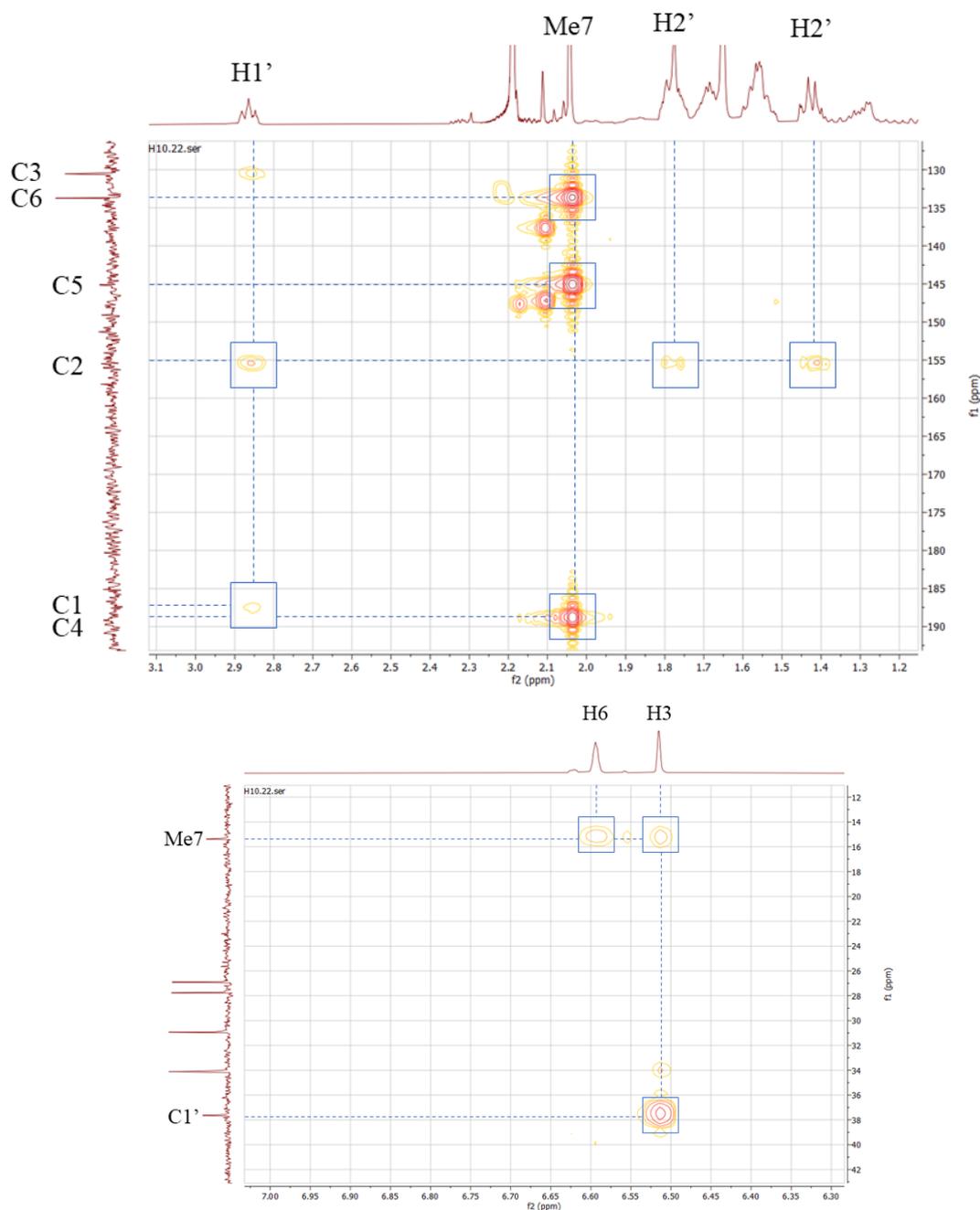


Figura 10. Experimento HMBC de A (CDCl₃, 600 MHz, 298 K). Este experimento permite determinar las correlaciones ¹H-¹³C a dos y tres distancias de enlace.

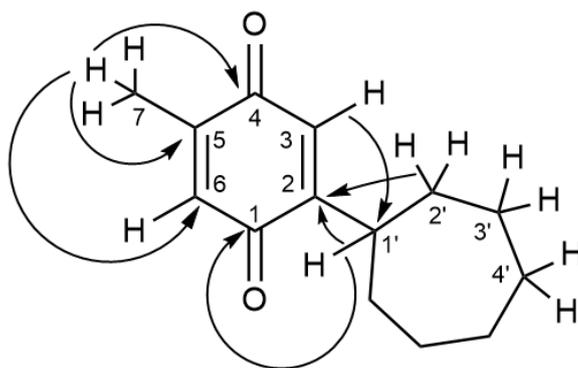


Figura 11. Correlaciones a dos y tres distancias entre señales de RMN ^1H - ^{13}C del compuesto A.

Con todo esto queda confirmada la estructura del compuesto A como 2-cicloheptil-5-metilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona. Los datos espectroscópicos resultantes quedan recogidos en la siguiente tabla (Tabla 1).

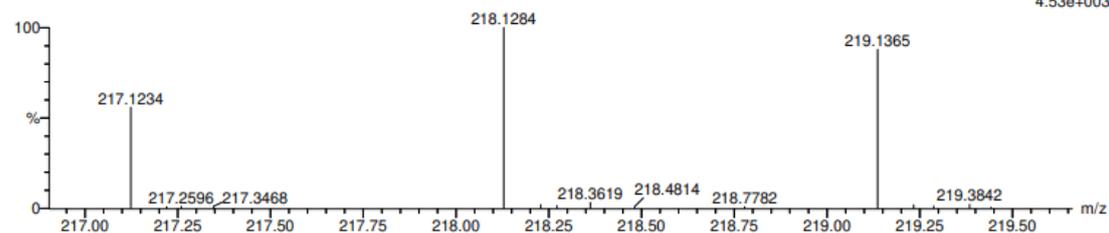
Tabla 1. Datos de RMN- ^1H y ^{13}C del compuesto A (CDCl_3 , 600 MHz, 298 K).

Posición	δ_{H} (ppm, <i>J</i>)	δ_{C} (ppm)
1	-	187.65 C
2	-	155.35 C
3	6.49; s	130.68 CH
4	-	188.93 C
5	-	145.26 C
6	6.57; d (0.92)	133.86 CH
7	2.02; d (0.92)	15.53 CH_3
1'	2.84; tt (10.56, 3.10)	37.79 CH
2'	1.75 1H (m); 1.40 1H (m)	34.25 CH_2
3'	1.75 1H (m); 1.40 1H (m)	27.05 CH_2
4'	1.65 1H (m); 1.55 1H (m)	27.92 CH_2

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
 4499 formula(e) evaluated with 4 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)
 Elements Used:
 C: 0-20 O: 0-20 Na: 0-2 1H: 0-110 2H: 0-2

Sara G
 (ES 21-197) Sara G (SG-013) 45 (1.514)

2: TOF MS ES-
 4.53e+003



Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	i-FIT (Norm)	Formula
217.1234	55.87	217.1229	0.5	2.3	6.5	127.0	0.0	C14 O2 1H17
218.1284	100.00	218.1291	-0.7	-3.2	6.5	103.3	0.0	C14 O2 1H16 2H
219.1365	87.93	219.1361	0.4	1.8	2.5	59.1	0.2	C12 O2 Na 1H20
		219.1354	1.1	5.0	6.5	60.5	1.6	C14 O2 1H15 2H2

Figura 12. Experimento de espectroscopía de masas del compuesto A. Ampliación del ion molecular.

Adicionalmente, el espectro de masas de alta resolución muestra un ión molecular a m/z 217.1234 que corresponde con el $[M-H]^-$ y confirma la fórmula molecular $C_{14}H_{18}O_2$ para el compuesto A (Figura 12).

4.5 Elucidación estructural de compuesto B

Tomando como base los datos espectroscópicos del compuesto A, se llevó a cabo el análisis comparativo del espectro de RMN ^1H del compuesto B (Figura 13) con objeto de confirmar su estructura. De manera análoga al anterior, se confirma la presencia de un triplete a δH 2.87 ppm correspondiente al $\text{H}1'$, así como las señales comprendidas entre 1.30 y 2.00 ppm que pertenecen a los hidrógenos del cicloheptano. A δH 2.05 ppm se observa el doblete característico del $\text{Me}7$ acoplado con $\text{H}5$ (δH 6.53 m, $J= 2.50, 1.60$ Hz). Esta señal a su vez presenta acoplamiento con un doblete δH 6.45, que corresponde con el protón olefínico $\text{H}3$ ($J= 2.50, 0.59$ Hz), confirmando una disposición relativa meta entre ambos. De esta manera, podemos definir la estructura del compuesto B como 2-cicloheptil-6-metilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona.

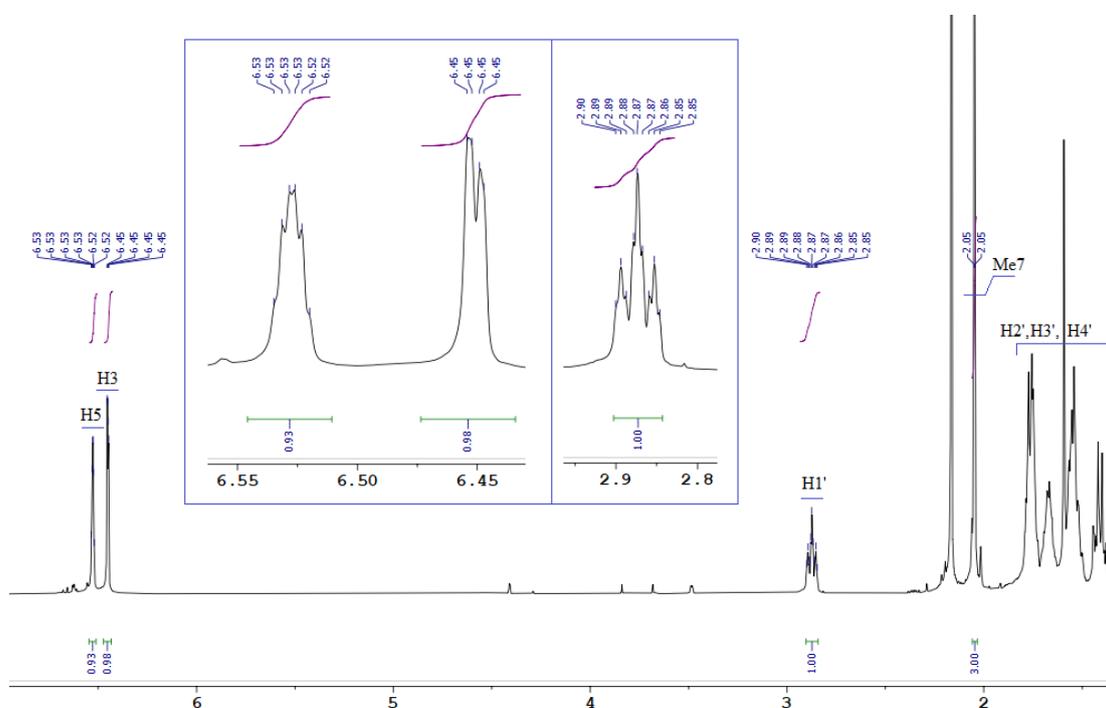


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H de compuesto B (CDCl_3 , 600 MHz, 298 K). Ampliación de las regiones entre 6.55-6.45 ppm y 2.9-2.8 ppm y asignación de las señales.

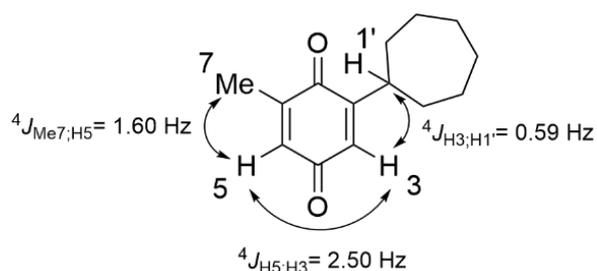


Figura 14. Estructura del compuesto B y constantes de acoplamiento más significativas de la molécula.

4.6 Actividad biológica antiparasitaria

La actividad antikineto-plástica de los compuestos A y B fue analizada por el grupo de Amebas de Vida Libre del Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias frente a dos especies de *Leishmania*, además de la citotoxicidad frente a macrófagos murinos J774A.1 (Tablas 2 y 3).

Tabla 2. Actividad antiparasitaria de los compuestos A y B frente a promastigotes de *Leishmania* spp. y citotoxicidad frente a macrófagos murinos J774A.1, comparada con miltefosina como fármaco de referencia. Datos de concentración en $\mu\text{g/ml}$.

Compuesto	<i>L. amazonensis</i> IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	<i>L. donovani</i> IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Toxicidad Macrófagos CC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Compuesto A	0.13 \pm 0.00	0.69 \pm 0,00	0.92 \pm 0.05
Compuesto B	0.70 \pm 0.02	14.32 \pm 0.05	8.95 \pm 1.75
Miltefosina	2.64 \pm 0.10	1.35 \pm 0.11	29.42 \pm 1.25

Tabla 3. Índice de selectividad (IS) (CC₅₀/IC₅₀) de los compuestos A y B, comparado con el fármaco de referencia, miltefosina.

Compuesto	IS <i>L. amazonensis</i>	IS <i>L. donovani</i>
Compuesto A	7.07	1.33
Compuesto B	24.19	0.63
Miltefosina	11.14	21.79

El compuesto A presentó la mejor actividad frente a ambas especies de *Leishmania* mejorando los datos de miltefosina, pero fue el más tóxico. Su isómero, el compuesto B, presentó mejor actividad frente a *L. amazonensis* que frente a *L. donovani* con respecto a miltefosina, siendo igualmente más tóxico que ésta, pero menos que el compuesto A.

La tabla 3 presenta el índice de selectividad (IS) de los compuestos ensayados, un valor que se emplea para definir la especificidad del efecto del fármaco entre el parásito y las células hospedadoras²³, en este caso macrófagos murinos. Los datos indican que el compuesto A resultó menos apto para su uso terapéutico en comparación con miltefosina para ambas especies de *Leishmania*. Sin embargo, el compuesto B presentó mejor IS que miltefosina para *L. amazonensis* convirtiéndose en un buen candidato terapéutico.

5. Conclusiones

- Tomando como modelo las estructuras oxidadas de sesquiterpenos presentes en el alga roja *Laurencia johnstonii* se ha realizado la síntesis de dos quinonas isoméricas sustituidas con actividad frente a *Leishmania spp.*, compuesto A y compuesto B.
- Los productos de reacción se purificaron y se determinaron sus estructuras a partir de un análisis de RMN mono- y bidimensional.
- El compuesto A presentó una actividad a nivel nanomolar frente a ambas especies de *Leishmania* pero resultó menos selectivo que el fármaco de referencia miltefosina.
- El compuesto B mostró una mayor actividad frente a *L. amazonensis* que para *L. donovani* teniendo además también un SI mayor que el referente para *L. amazonensis* lo que lo convierte en un buen candidato como antiparasitario.

6. Bibliografía

1. World Health Organization. Neglected tropical diseases. 2021. Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/questions-and-answers/item/neglected-tropical-diseases>.
2. Organización Panamericana de la salud. Leishmaniasis. 2021. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/leishmaniasis>.
3. Vera-Izaguirre D, Vega-Memije E, Quintanilla Cedillo M, Arenas R. Leishmaniasis. Revisión. DCMQ. 2006; 4(4):252–260.
4. de Vries HJ, Reedijk SH, Schallig HD. Cutaneous leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol*. 2015; 16(2):99-109.
5. Garza-Tovar TF, Sacriste-Hernández MI, Juárez-Durán ER, Arenas R. An overview of the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Fac Rev*. 2020; 9:28.
6. Álvarez-Bardón M, Pérez-Pertejo Y, Ordóñez C, Sepúlveda-Crespo D, Carballeira NM, Tekwani BL, Murugesan S, Martinez-Valladares M, García-Estrada C, Reguera RM, Balaña-Fouce R. Screening marine natural products for new drug leads against trypanosomatids and malaria. *Mar Drugs*. 2020; 18(4):187.
7. Nweze JA, Mbaoji FN, Li YM, Li YY, Huang SS, Chigor VN, Eze EA, Pan LX, Zhang T, Yang DF. Potentials of marine natural products against malaria, leishmaniasis, and trypanosomiasis parasites: a review of recent articles. *Infect Dis Poverty*. 2021; 10(1):9.
8. Rodrigues IA, Mazotto AM, Cardoso V, Alves RL, Amaral AC, Silva JR, Pinheiro AS, Vermelho AB. Natural Products: Insights into leishmaniasis inflammatory response. *Mediators Inflamm*. 2015; 2015:1-12.
9. Nweze JA, Mbaoji FN, Huang G, Li Y, Yang L, Zhang Y, Huang S, Pan L, Yang D. Antibiotics development and the potentials of marine-derived compounds to stem the tide of multidrug-resistant pathogenic bacteria, fungi, and protozoa. *Mar Drugs*. 2020; 18:145.

10. Chiboub O, Sifaoui I, Abderrabba M, Mejri M, Fernández JJ, Díaz-Marrero AR, Lorenzo-Morales J, Piñero JE. Apoptosis-like cell death upon kinetoplastid induction by compounds isolated from the brown algae *Dictyota spiralis*. *Parasit Vectors*. 2021; 14(1):198.
11. Bethencourt-Estrella CJ, Nocchi N, López-Arencibia A, San Nicolás-Hernández D, Souto ML, Suárez-Gómez B, Díaz-Marrero AR, Fernández JJ, Lorenzo-Morales J, Piñero JE. Antikinetoplastid activity of sesquiterpenes isolated from the zoanthid *Palythoa aff. clavata*. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021; 14(11):1095.
12. Cartuche L, Sifaoui I, López-Arencibia A, Bethencourt-Estrella CJ, San Nicolás-Hernández D, Lorenzo-Morales J, Piñero JE, Díaz-Marrero AR, Fernández JJ. Antikinetoplastid Activity of indolocarbazoles from *Streptomyces sanyensis*. *Biomolecules*. 2020; 10(4):657.
13. Díaz-Marrero AR, López-Arencibia A, Bethencourt-Estrella CJ, Cen-Pacheco F, Sifaoui I, Hernández Creus A, Duque-Ramírez MC, Souto ML, Hernández Daranas A, Lorenzo-Morales J, Piñero JE, Fernández JJ. Antiprotozoal activities of marine polyether triterpenoids. *Bioorg Chem*. 2019; 92:103276.
14. Ramos-Milaré ÁCFH, Oyama J, Murase LS, Souza JVP, Guedes BS, Lera-Nonose DSSL, Monich MT, Brustolin AÁ, Demarchi IG, Teixeira JJV, Lonardon MVC. The anti-Leishmania potential of bioactive compounds derived from naphthoquinones and their possible applications. A systematic review of animal studies. *Parasitol Res*. 2022; 121(5):1247-1280.
15. Leyva E, Loredó-Carrillo SE, López LI, Escobedo-Avellaneda, EG, Navarro-Tovar G. Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica. *J Chem Appl Chem Eng*. 2017; 74:577.
16. Imperatore C, Gimmelli R, Persico M, et al. Investigating the Antiparasitic Potential of the Marine Sesquiterpene Avarone, Its Reduced form Avarol, and the Novel Semisynthetic Thiazinoquinone Analogue Thiazoavarone. *Mar Drugs*. 2020; 18(2):112.
17. Iliopoulou D, Roussis V, et al. Halogenated sesquiterpenes from the red alga *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron*. 2002; 58(33): 6749-6755.

18. Dos Santos AO, Veiga-Santos P, Ueda-Nakamura T, Filho BP, Sudatti DB, Bianco EM, Pereira RC, Nakamura CV. Effect of elatol, isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*. *Mar Drugs*. 2010; 8(11):2733-43.
19. Harizani M, Ioannou E, Roussis V. The *Laurencia* paradox: an endless source of chemodiversity. *Prog Chem Org Nat Prod*. 2016; 102:91-252.
20. García-Davis S, Sifaoui I, Reyes-Battle M, Viveros-Valdez E, Piñero JE, Lorenzo-Morales J, Fernández JJ, Díaz-Marrero AR. Anti-*Acanthamoeba* activity of brominated sesquiterpenes from *Laurencia johnstonii*. *Mar Drugs*. 2018; 16(11):443.
21. García-Davis S, Leal-López K, Molina-Torres CA, Vera-Cabrera L, Díaz-Marrero AR, Fernández JJ, Carranza-Rosales P, Viveros-Valdez E. Antimycobacterial activity of Laurinterol and Aplysin from *Laurencia johnstonii*. *Mar Drugs*. 2020; 18(6):287.
22. Kilway KV. Friedel-Crafts alkylation: 1,4-dimethoxybenzene and biphenyl. Department of Chemistry, University of Missouri. 2007; 14(5):688-692.
23. Suárez JS, Albarracín D, Rojas M, Rincon J, Robledo S, Muñoz DL, Oviedo JJ, Calderón MN, Fernández N, Delgado G. Evaluación de la actividad citotóxica y leishmanicida de extractos y fracciones de *Piper cumanense* y *Piper holtonii*. *Rev Colomb Cienc Quím Farm*. 2010; 39(1):21-29.