

ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA DE  
PRODUCTOS DE NUEVA SINTESIS DERIVADOS DEL  
2-IMINOTIAZOL Y DEL 2-IMINOTIADIAZOL  
I. ACTIVIDAD OXIURICIDA

ALONSO, M. T.; BERENGUER, F. J.; PUJOL, M. T.; GALLEGRO, J.

Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia

Universidad de Barcelona

(Recibido el 27 de Noviembre de 1984)

SUMMARY

The oxiuricide (nematocide) activity of some new derivatives of 2-iminotiazol and 2-iminotiadiazol is tested. The oxiuricide activity is determined against *Aspiculuris tetraptera* and *Syphacia obvelata* in the white mouse naturally infected with both nematodes, using Mebendazole as reference drug. The drugs (reference and new products) are given per os in a single dose of 100 and 200  $\mu\text{g}$  per g of animal weight. The anthelmintic activity is evaluated as percentage of desparasitated animals. The obtained results show that the new products are completely inactive as oxiuricides.

Key Words: Oxiuricide activity, *Aspiculuris tetraptera*, *Syphacia obvelata*, 2-iminotiazol, 2-iminotiadiazol.

RESUMEN

Se ha llevado a cabo un estudio sobre la actividad oxiuricida (nematocida) de nuevos productos derivados del 2-iminotiazol y del 2-iminotiadiazol. Esta actividad ha sido determinada en el ratón albino, naturalmente infestado por *Aspiculuris tetraptera* y *Syphacia obvelata*. Se ha utilizado Mebendazol como fármaco de referencia. Los fármacos (el de referencia y los nuevos productos) han sido administrados per os a dosis única de 100 y

200 µg/g de peso corporal de ratón. La actividad antihelmíntica se ha evaluado como el porcentaje de animales totalmente desparasitados. Los resultados obtenidos muestran que los nuevos productos son totalmente inactivos como oxiuricidas.

Palabras Clave: Actividad oxiuricida, *Aspiculuris tetrapera*, *Syphacia obvelata*, 2-iminotiazol, 2-iminotiadiazol.

## INTRODUCCION

Entre las estructuras químicas con una actividad antihelmíntica de espectro más amplio, destacan los derivados del benzimidazol. De entre ellos el descubrimiento del Tiabendazol fue el resultado de estudios efectuados sobre centenares de derivados sustituidos de la molécula del benzimidazol. Con posterioridad se introdujo el Mebendazol en el tratamiento de infestaciones por nematodos (Brugmans y col.<sup>4</sup>). A partir de estos hallazgos se han desarrollado nuevos benzimidazoles, con actividades antihelmínticas similares a los anteriores, actividades que se extienden en algunos casos a trematodos y cestodos. De entre ellos cabe destacar el Parbendazol (Actor y col.<sup>1</sup>), Cambendazol (Hoff y col.<sup>8,9</sup>), Oxfendazol (Averkin y col.<sup>3</sup>), Flubendazol (Raeymaekers y col.<sup>10</sup>) y otros.

Cabe destacar asimismo otras estructuras con actividad antihelmíntica, aparecidas como resultado de aplicar el método de modificación molecular respecto al núcleo del benzimidazol. Así los análogos 2-carbamato de imidazo (1,2- $\alpha$ ) piridina, sustituidos en la posición 6, han mostrado actividades similares a los correspondientes benzimidazoles (Ginger<sup>7</sup>).

En esta línea de investigación hemos llevado a cabo un estudio de la posible actividad oxiuricida de 14 nuevos productos de síntesis, 8 de los cuales presentan en su molécula como término constante el núcleo del 2-iminotiazol con un radical metil-carbamato, y los 6 restantes presentan el núcleo del 2-iminotiadiazol, también con un radical metil-carbamato. La semejanza estructural de todos estos productos con las moléculas del Tiabendazol y del Mebendazol, es evidente (\*).

(\*) Productos sintetizados en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, por la Dra. doña Natividad Valls y doña Asunción Marín, y amablemente cedidos para su investigación.

Para el ensayo de la posible actividad oxiuricida de esta serie de nuevos derivados hemos elegido el procedimiento que se basa en la determinación del "índice de desparasitación" (porcentaje de animales hospedadores totalmente desparasitados, por comparación con un lote control, parasitado y no tratado con fármaco alguno), método usado por innumerables investigadores y cuya aplicabilidad para el ensayo rápido de series elevadas de productos ("screening") ha sido anteriormente comentada por Farrel y col.<sup>5</sup>.

## MATERIAL Y METODOS

A) PRODUCTOS A ENSAYAR. Se detallan en los Cuadros n.º 1 y 2. Los productos A a H (Cuadro n.º 1) son metil-carbamatos 2-iminotiazólicos, a excepción del producto G, que, si bien carece estructuralmente del heterociclo 2-iminotiazólico, ha sido incluido en este grupo por presentar una estructura estrechamente emparentada con la del producto H. Los productos I a N (Cuadro n.º 2), son metil-carbamatos 2-iminotiadiazólicos.

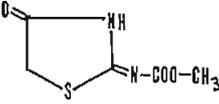
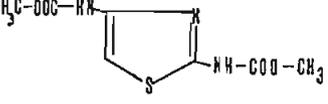
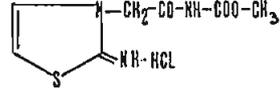
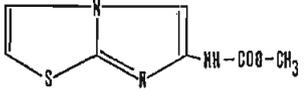
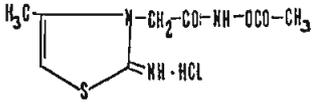
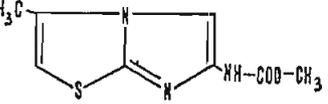
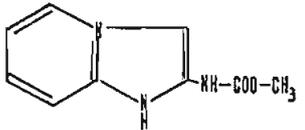
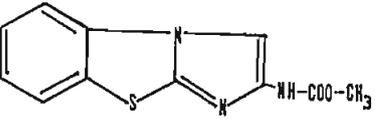
### B) ACTIVIDAD OXIURICIDA

1. *Material*. Ratones albinos machos de la raza Charles River, cepa CD1, naturalmente infestados por los oxiuros *Aspiculuris tetraptera* y *Syphacia obvelata*, en infestación mixta, y cuyo peso corporal es de  $30 \pm 5$  gramos.

2. *Método*. Descrito ampliamente por Gállego y col.<sup>6</sup>. Consiste escuetamente en la administración por vía oral, mediante sonda gástrica, a lotes de 10 ratones, de distintas dosis de los productos a ensayar (en solución o suspensión en jarabe de azúcar al 50% p/p), utilizando además en cada experiencia un lote de animales que actúa como control (al que se administra placebo), y otro lote que se trata con Mebendazol como fármaco de referencia, a las mismas dosis que los productos en ensayo, a fin de establecer la diferencia de actividad entre los nuevos productos y el fármaco patrón. Las dosis ensayadas fueron de 100 y 200 µg/g de peso corporal de ratón.

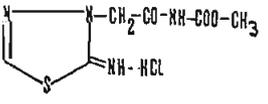
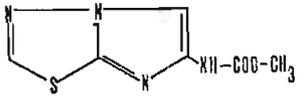
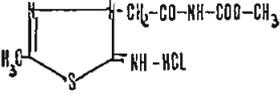
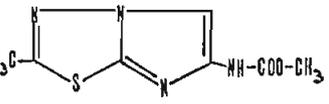
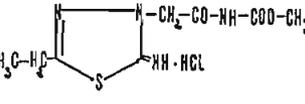
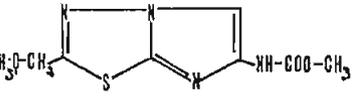
Cuadro n.º 1

## Metil-carbamatos del 2-iminotiazol

<p>A</p>  <p>2-metoxycarbonilimino-4-tiazolidinona.</p>	<p>B</p>  <p>2,4-dimetoxycarbonilaminotiazol.</p>
<p>C</p>  <p>Hidrocloruro de N-(2-iminotiazolin-3-ilacetil) carbamato de metilo.</p>	<p>D</p>  <p>N-(imidazo[2,1-b]tiazol-6-il) carbamato de metilo.</p>
<p>E</p>  <p>Hidrocloruro de N-(2-imino-4-metil tiazolin-3-ilacetil) carbamato de metilo.</p>	<p>F</p>  <p>N-(3-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il) carbamato de metilo.</p>
<p>G</p>  <p>N-(imidazo[1,2-a]piridin-2-il) carbamato de metilo.</p>	<p>H</p>  <p>N-(imidazo[2,1-b]benzotiazol-2-il) carbamato de metilo.</p>

Cuadro n.º 2

## Metil-carbamatos del 2-iminotiadiazol

<p>I</p>  <p>Hidrocloruro de N-(2-imino-1,3,4-tiadiazolin-3-ilacetil) carbamato de metilo.</p>	<p>J</p>  <p>N-(imidazo[2,1-b][1,3,4]tiadiazol-6-il) carbamato de metilo.</p>
<p>K</p>  <p>Hidrocloruro de N-(2-imino-5-metil-1,3,4-tiadiazolin-3-ilacetil) carbamato de metilo.</p>	<p>L</p>  <p>N-(2-metilimidazo[2,1-b][1,3,4]tiadiazol-6-il) carbamato de metilo.</p>
<p>M</p>  <p>Hidrocloruro de N-(5-etil-2-imino-1,3,4-tiadiazolin-3-ilacetil) carbamato de metilo.</p>	<p>N</p>  <p>N-(2-etilimidazo[2,1-b][1,3,4]tiadiazol-6-il) carbamato de metilo.</p>

El criterio seguido para la evaluación de resultados es el del "índice de desparasitación" (I.D.), entendiendo por tal el porcentaje de animales hospedadores totalmente desparasitados por la acción de un producto, en relación con los animales parasitados del control.

De acuerdo con Thompson y col.<sup>11</sup>, que trabajan según este mismo criterio y con infestaciones naturales por *A. tetraptera* y *S. obvelata*, aplicamos la fórmula:

$$\text{I.D.} = \frac{\left( \begin{array}{c} \% \text{ ratones parasitados} \\ \text{en el lote control} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \% \text{ ratones parasitados} \\ \text{en el lote parasitado} \end{array} \right)}{\left( \begin{array}{c} \% \text{ ratones parasitados} \\ \text{en el lote control} \end{array} \right)} \cdot 100$$

que, en el caso prácticamente constante de que los animales hospedadores del lote aparezcan parasitados en un 100%, se reduce a:

$$\text{I.D.} = \frac{\text{número de ratones totalmente desparasitados en el lote tratado}}{\text{número total de ratones en el lote tratado}} \cdot 100$$

#### RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la determinación de la posible actividad oxiuricida de los nuevos productos, se reflejan en el Cuadro n.º 3 adjunto.

CUADRO n.º 3

Resultados obtenidos en la determinación de la actividad oxiuricida

	Dosis 100 µg/g			Dosis 200 µg/g		
	n.º total ratones	n.º ratones desparasitados (%)	I.D.	n.º total ratones	n.º ratones desparasitados (%)	I.D.
CONTROL	20	0	—	22	0	—
MEBENDAZOL	26	15	53	24	17	73
A	10	0	0	10	0	0
B	10	0	0	10	0	0
C	10	0	0	10	0	0
D	10	0	0	10	0	0
E	8	0	0	10	0	0
F	8	0	0	8	0	0
G	8	0	0	8	0	0
H	10	0	0	10	0	0
I	10	0	0	10	0	0
J	10	0	0	10	0	0
K	10	0	0	10	0	0
L	9	0	0	10	0	0
M	8	0	0	10	0	0
N	10	0	0	10	0	0

#### DISCUSION

A partir de los resultados obtenidos se observa que el Mebendazol, tal y como cabía esperar, demuestra una actividad claramente oxiuricida, con unos índices de desparasitación medios de 53% para la dosis de 100 µg/g y de 73% para la dosis de 200 µg/g, por vía oral a dosis única.

En un trabajo precedente, Alonso y col.<sup>2</sup> estudian la relación dosis actividad oxiuricida para el Mebendazol, en el mismo sistema hospedador-parásito (ratón-oxiuros *A. tetraptera* y *S. obvelata*), y también según el mismo procedimiento experimental, pero aplicando el criterio del "índice de eliminación" de oxiuros (porcentaje de oxiuros eliminados en el lote tratado respecto a su población oxiuriásica inicialmente existente, antes de la administración del fármaco). Encuentran para el Mebendazol un índice de eliminación 95% (I.E.<sub>95</sub>) de 25 µg/g. Esto parece indicar que, si bien una dosis de 25 µg/g consigue eliminar el 95% de los oxiuros presentes, la total eliminación de estos helmintos es difícil y requiere, según la técnica de la dosis única por vía oral, con sacrificio de los animales hospedadores a las 48 horas, una dosis de fármaco mucho más elevada, lo que a su vez está de acuerdo con el hecho teórico de que la curva dosis-actividad es asintótica hacia el infinito con la abcisa correspondiente a un 100% de desparasitación.

Sin embargo, los nuevos derivados azapentalénicos ensayados se muestran totalmente carentes de actividad oxiuricida.

Desde un punto de vista puramente cuantitativo, el índice de desparasitación (I.D.) es cero para todos los productos estudiados y a todas las dosis ensayadas: en ninguno de ellos, a pesar de las altas dosis administradas, se ha conseguido la total desparasitación de un solo animal hospedador.

Desde un punto de vista cualitativo, no parece que exista tampoco una actividad oxiuricida apreciable. La lectura de la población oxiuriásica presente en los animales hospedadores, después de su sacrificio y disección post-tratamiento con los productos

en estudio, se llevó a cabo observando la presencia o ausencia de oxiuros en su intestino ciego y recto y evaluando de una forma subjetiva la intensidad de la parasitación en cada animal hospedador. Comparando estos niveles de parasitación en los ratones de los lotes tratados con los productos en estudio y en los ratones de los diversos lotes control utilizados, tampoco se observó una reducción apreciable del grado de infestación, excepto en el caso de los ratones tratados con el fármaco de referencia (Mebendazol), que sí ofrecían claramente, si no una desparasitación total, por lo menos una reducción muy aparente de su nivel de infestación.

#### REFERENCIAS

1. Actor, P.; Anderson, E. L.; Dicuollo, C. J.; Ferlauto, R. J.; Hoover, J. R. E.; Pagano, J. F.; Ravin, R. J.; Scheidy, S. F.; Stedman, R. J.; Theodorides, V. J.: New Broad Spectrum Anthelmintic, Methyl 5(6)-Butyl-2-benzimidazolecarbamate *Nature*, 215, 1967, 321.
2. Alonso Méndez, M. T.; Berenguer Puvía, F. J.; Gállego Berenguer, J.: Mebendazol: Estudio experimental comparativo de su actividad oxiuricida en dos formas distintas de administración. *Rev. Ibér. Parasitol.*, 44, 1984, 199-211.
3. Averkin, E. A.; Beard, C. C.; Dvórák, C. A.; Edwards, J. A.; Fried, J. H.; Kilian, J. C.: Methyl 5(6)-Phenylsulphinyl-2-benzimidazolecarbamate, a New, Potent Anthelmintic. *J. Med. Chem.*, 18, 1975, 1164.
4. Brugmans, J. P.; Thienpont, D. C.; Wijngaarden, I.; Vanparijs, O. F.; Schuermans, V. L.; Lauwers, H. L.: Mebendazole in enterobiasis. Radiochemical and pilot clinical study in 1278 subjects. *J. Am. Med. Ass.*, 217, 1971, 313-316.
5. Farrell Sala, A.; Berenguer Puvía, F. J.; Gállego Berenguer, J.: Estudios sobre antihelmínticos. VII. Estudio comparativo de dos procedimientos (basados respectivamente en los índices de desparasitación y de eliminación) para la determinación experimental de la actividad oxiuricida. *Rev. Ibér. Parasitol.*, 34, 1974, 331-353.
6. Gállego, J.; Selva, J. M.; Berenguer, F. J.: Estudios sobre antihelmínticos. I. Procedimiento de recuento de oxiuros en el ratón: descripción del método. *Rev. Ibér. Parasitol.*, 25, 1965, 41-56.

7. Ginger, C. D.: Human antiparasitic agents. *Ann. Rep. Med. Chem.*, 16, 1981, 129-135.
8. Hoff, D. R.; Fisher, M. H.; Bochis, R. J.; Lusi, A.; Waksmunsky, F.; Egerton, J. R.; Yakstis, J. J.; Cuckler, A. C.; Campbell, W. C.: A new broad spectrum anthelmintic: 2-(4-thiazolyl-5-isopropoxycarboilaminobenzimidazole. *Experientia*, 26, 1970, 550-551.
9. Hoff, D. R.; Peterson, L. H.; African, S.: Anthelmintic 2-(4-thiazolyl)thieno (2,3-d) imidazoles. *Chem. Abst.* 72, 1970, 100702K.
10. Raeymaekers, A. H. M.; Van Gelder, J. L. H.; Roevens, L. F. C.; Janssen, P. A. J.: Synthesis and Anthelmintic Activity of Alkyl (5-acyl-1-H-benzimidazol-2-yl). *Arzneimittel-Forsch.*, 28, 1978, 586.
11. Thompson, P. E.; Reinertson, J. W.: Chemoterapeutic studies of natural pinworm in mice. *Exp. Parasitol.*, 1, 1952, 384-391.