

Dianas para la quimioterapia antimalárica

Targets for Antimalaric Chemotherapy

Ana María Mesa Vanegas^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-3901-9783>

¹Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Biología. Medellín, Colombia.

*Autor para la correspondencia: amaria.mesa@udea.edu.co

RESUMEN

Introducción: Diversos factores biológicos, ecológicos y sociopolíticos se han combinado para producir un aumento en la prevalencia de algunas de las enfermedades parasitarias. Lo que ha tenido una gran incidencia en el caso de la malaria o paludismo.

Objetivo: Identificar posibles compuestos antimaláricos que sirvan de modelo para profundizar en la búsqueda de nuevas sustancias químicas para la quimioterapia antimalárica.

Métodos: Se consultaron las bases de datos ScienceDirect y Scopus, Pubmed (motor de búsqueda para acceder a base de datos bibliográficas compiladas por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos), SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), Google académico sobre reportes bibliográficos del diseño y desarrollo de nuevos fármacos con base a las dianas terapéuticas más estudiadas en el plasmodio y que inhiben el crecimiento del parásito en cultivo *in vitro*.

Conclusiones: De acuerdo al análisis de los datos y la información obtenida en la presente revisión, se encontró que los estudios con la cloroquina y la inhibición de la biocrystalización del grupo hemo como modo de acción son de gran relevancia experimental y es una de las

dianas definidas para el diseño de nuevos medicamentos, además de que existen otros mecanismos que sugieren nuevos enfoques quimioterapéuticos.

Palabras clave: malaria; *Plasmodium*; quimioterapia; blancos terapéuticos, antimalárico.

ABSTRACT

Introduction: Several biological, ecological and sociopolitical factors have combined to produce an increase in the prevalence of some parasitic diseases, which has had a great incidence in the case of malaria.

Objective: To identify possible antimalarial compounds that serve as models to deepen the search for new chemical substances for antimalarial chemotherapy.

Methods: Several databases were consulted: *ScienceDirect* and *Scopus*, *Pubmed* (search engine to access bibliographic databases compiled by the National Library of Medicine of the United States), *SciELO* (Scientific Electronic Library Online), Google Scholar, about bibliographic reports of the design and development of new drugs based on the most studied therapeutic targets in the plasmodium and that inhibit the *in vitro* growth of the parasite.

Conclusions: According to the analysis of the data and the information obtained in the present review, it was found that the studies with chloroquine and the inhibition of biocrystallization of the heme group as a mode of action are of great experimental relevance and is one of the targets defined for the design of new drugs, in addition to other mechanisms that suggest new chemotherapeutic approaches.

Keywords: malaria; *Plasmodium*; chemotherapy; therapeutic targets; antimalaric drug.

Recibido: 21/04/2019

Aceptado: 27/05/2020

Introducción

Las enfermedades parasitarias como: la malaria, leishmaniasis, tripanosomiasis, esquistosomiasis y filarias siguen siendo las causas principales de enfermedad y muerte en el mundo actual.⁽¹⁾ Diversos factores biológicos, ecológicos y sociopolíticos se han

combinado para producir un aumento en la prevalencia de algunas de estas enfermedades. Lo que ha tenido una gran incidencia en el caso de la malaria o paludismo.⁽²⁾ Alrededor de 3200 millones de personas, cerca de la mitad de la población mundial, están expuestas al paludismo.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre el año 2000 y 2015, en 43 de los 99 países con transmisión, se registró una reducción de casos de paludismo de más del 50 %, mientras que en otros 8 países la reducción fue entre el 25 % y el 50 %. En el año 2017, 91 países reportaron un total de 219 millones de casos de paludismo, un incremento de 3,5 millones de casos con relación al año anterior, donde 15 países tienen el 80 % de la carga mundial de paludismo.⁽³⁾ El total de muertes a nivel global llegó a 435 000, similar a lo reportado en el 2016.

En América hay transmisión de paludismo en 9 países de la región que comparten la selva amazónica, y en 8 países de América Central y el Caribe. La incidencia de casos de paludismo en el 2018 se redujo a nivel mundial y las tasas de mortalidad siguieron un patrón similar. Según los datos reportado por la OMS, en el 2014 África continuaba representando, cerca del 90 % de los casos de paludismo y muertes en todo el mundo.⁽⁴⁾

Para mitigar el impacto de esta enfermedad en las poblaciones humanas se han utilizado diferentes medicamentos y tratamientos. Durante más de 50 años se aplica la cloroquina (CQ) para tratar la malaria, sin embargo, gracias a sus ventajas, como la rápida acción de los parasiticidas, el bajo costo, la seguridad y la disponibilidad generalizada, surge la resistencia como consecuencia de su presión intensiva. En 1950 se identificaron los primeros informes de resistencia a la CQ, la cual se extendió gradualmente por todo el mundo, indicando aumento en la morbilidad y la mortalidad.⁽⁵⁾

La secuencia del genoma del parásito de la malaria humana *P. falciparum* cepa 3D7 se completó en el año 2002. Este genoma 22,8 Mb de *Plasmodium* comprende 5,268 genes y el 5,5 % de los genes corresponden a proteínas expresada o marcadores de secuencia expresada. Dos tercios de las proteínas predichas no tienen similitud con las proteínas encontradas en otros organismos, lo que sugiere que *Plasmodium* tiene proteínas únicas que pueden ser nuevas dianas y marcadores terapéuticos.⁽⁶⁾ Los estudios de expresión de proteínas con un enfoque genómico, proteómico y metabolómico permiten estudios

funcionales a nivel celular, que facilitan la comprensión de los mecanismos moleculares y su entendimiento en el desarrollo de nuevas dianas para la quimioterapia antimalárica.⁽⁷⁾

Generalmente, en el diseño y búsqueda de un nuevo fármaco antimalárico se parte del hallazgo de un compuesto de origen natural o de síntesis orgánica con determinada actividad biológica comprobada a nivel *in vitro*. Esto no presupone que reúna las mejores condiciones de uso terapéutico, por lo que se utiliza como cabeza de serie o prototipo y se somete a modificaciones estructurales.⁽⁸⁾ A continuación se busca optimizar la actividad terapéutica a través de avanzados conocimientos biológicos de proteínas receptoras y otras estructuras celulares, bloqueando o modificando esta función del receptor o enzima para llegar a seleccionar la nueva molécula con acción óptima.

Estas moléculas pueden, incluso, ser visualizadas y modificadas tridimensionalmente en pantallas computacionales con el fin de mejorar sus propiedades frente a la interacción con algún receptor, con la única finalidad de mejorar su potencial biológico y, en otros casos, pueden mejorar las propiedades de solubilidad o de formulación.⁽⁹⁾ Este proceso se conoce como farmacomodulación que junto con las propiedades físicas, químicas y biológicas de las moléculas e iones (isosterismo y bioisosterismo) permitirán predecir mediante el diseño molecular de forma cualitativa y cuantitativa (relación estructura-actividad SAR y relación cuantitativa estructura-actividad QSAR) las propiedades farmacológicas de una sustancia. El empleo de estos criterios estructurales permite diseñar de una forma racional nuevas moléculas que han presentado efectos similares o mejores a los compuestos de referencia, conduciendo al desarrollo y escalabilidad industrial de un nuevo fármaco. Una generación de moléculas activas contra *P. falciparum*, basadas en los mecanismos de acción de los medicamentos de uso actual, como la cloroquina, y en procesos metabólicos que ocurren en el parásito, ya estaban siendo sintetizadas en el 2012 y se encontraban en procesos de estudios clínicos fase I y II.⁽¹⁰⁾ Sin embargo, todas estas moléculas nuevas presentan una potencial capacidad de inhibir el crecimiento del parásito en cultivo, pero varias de ellas son descartadas por sus efectos tóxicos, resistencia del parásito, pobre solubilidad y biodisponibilidad, por lo que aún se debe continuar la búsqueda de nuevos antimaláricos que permitan su uso combinado con otros medicamentos.⁽¹¹⁾ En este sentido, la presente revisión presenta una visión sobre el agente causal de la enfermedad, el ciclo de vida y el tratamiento

quimioterapéutico y las estrategias en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos con base a los blancos terapéuticos más estudiados en el plasmodio que inhiben el crecimiento del parásito en cultivo *in vitro*. De ahí que el objetivo del presente estudio sea identificar posibles compuestos antimaláricos que sirvan de modelo para profundizar en la búsqueda de nuevas sustancias químicas para la quimioterapia antimalárica.

Métodos

Estrategia de búsqueda

Se buscó información sobre estudios publicados que abordaran los mecanismos de acción con actividad antimalárica y dianas terapéuticas asociados al tratamiento contra *Plasmodium*. Para ello se consultaron las bases de datos ScienceDirect y Scopus, se realizaron consultas en Pubmed (motor de búsqueda para acceder a base de datos bibliográficas compiladas por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos), SciELO (*Scientific Electronic Library Online*) y en Google académico.

La expresión de búsqueda fue una combinación de palabras clave y operadores booleanos: hemozoina AND/OR falcipainas AND/OR plasmepsinas AND/OR apicoplasto AND/OR biocrystalización del grupo hemo AND/OR farnesilación de proteínas AND/OR metabolismo vía folato, AND/ OR metabolismo del glutatión AND/OR invasión del eritrocito.

Se revisaron las referencias de los artículos pertinentes recuperados de la búsqueda electrónica y de las revisiones sistemáticas publicadas con anterioridad en formato digital. Se seleccionaron solo los estudios con fecha de publicación entre 1998-2019 y que documentaran mecanismos de inhibición o mecanismos bioquímicos asociados a la búsqueda de dianas contra *Plasmodium*. Se incluyeron materiales bibliográficos en los que su enfoque principal fueran los mecanismos de acción de sustancias y moléculas con efectos antiplasmodial.

Selección de los estudios

En el tamizaje se revisaron artículos completos, títulos y resúmenes. Después se extrajo la información y se realizó una evaluación de la calidad de los estudios incluidos. En cada caso se analizó la pertinencia de cada estudio y se revisaron los datos respecto a los aspectos relacionados con la acción antimalárica y el mecanismo de inhibición.

Selección del material bibliográfico

Un total de 5405 artículos fueron identificados en las consultas realizadas: 645 en Pubmed, 1059 en ScienceDirect, 6 en Scopus, 685 en SciELO y 3010 en Google académico. Se revisaron a texto completo 24 documentos que cumplieron con los criterios de elegibilidad.

Biología general de *Plasmodium*

La malaria es una enfermedad ocasionada por el parásito de género *Plasmodium*, se transmite a los seres humanos por la picadura de la hembra del mosquito *Anopheles*, que se reproduce en regiones que combinan calor, humedad y vegetación.⁽¹²⁾ Las principales especies de *Plasmodium* que afectan al hombre son *P. vivax* y *P. falciparum*, siendo *P. falciparum* la más peligrosa por su patogenicidad, que en muchas ocasiones lleva a la muerte del individuo. Existen otras dos especies de importancia regional, *P. malariae* y *P. ovale*, que causan formas benignas de la malaria. En sangre circulante, se diferencian cuatro formas parasitarias: trofozoítos (en parásitos jóvenes tienen forma de anillos), esquizontes, gametocitos y merozoítos que son las formas que invaden (presentan forma oval).

El *Plasmodium* tiene un complejo ciclo de vida en dos tipos de hospederos: uno en el mosquito, que es el hospedero definitivo, con reproducción sexual llamado ciclo esporogónico y otro que ocurre en el hombre que es el hospedero intermediario, con reproducción asexual llamado ciclo esquizogónico.⁽¹³⁾ El ciclo sexual o ciclo esporogónico se efectúa únicamente en la hembra del mosquito *Anopheles*, ya que esta requiere de productos sanguíneos para producir sus huevos y se infecta al ingerir sangre de una persona infectada que contiene, entre otros, los estadios sexualmente diferenciados: gametocitos macho y hembra, denominados macro y microgametocitos respectivamente. La duración del ciclo esporogónico en el mosquito varía entre 7 y 14 días, según la especie de *Plasmodium*.⁽¹⁴⁾

El hombre, hospedero vertebrado e intermediario, adquiere la infección por la picadura de mosquitos infectados que transmiten los esporozoítos de *Plasmodium* a través de las glándulas salivales. Aquí se inicia el ciclo esquizogónico, el cual comienza con la penetración intracapilar de los esporozoítos a través de la piel donde circulan aproximadamente media hora e invaden las células hepáticas y después de un período de incubación se divide en dos etapas de reproducción esquizogónica: primero ocurre la formación de esquizontes tisulares primarios y después de 7 a 14 días, según la especie, se presenta la ruptura de estos con liberación de merozoítos a sangre periférica.⁽¹⁵⁾

El parásito intracelular adquiere una forma de anillo que aumenta de tamaño y toma un aspecto irregular o ameboide denominado trofozoíto joven en forma de anillo, trofozoíto maduro, luego el núcleo se divide para formar esquizontes multinucleados que circulan libremente en circulación periférica. Cuarenta y ocho horas después de haber sido invadido, el eritrocito se rompe liberando entre 6 y 24 nuevos parásitos que pueden reiniciar el ciclo eritrocítico. La sintomatología malárica ocurre al romperse el mayor número de eritrocitos liberando merozoítos, restos de parásitos y pigmento malárico. En *P. vivax* desde el inicio del ciclo se observan gametocitos y formas asexuales.⁽¹³⁾ Algunos de estos parásitos intraeritrocíticos como *P. falciparum* en su forma madura como esquizontes se adhieren a los receptores en microvasos de los diferentes órganos, allí son secuestrados causando la gravedad fisiopatológica.⁽¹²⁾

La malaria producida por *P. vivax* y *P. falciparum* presenta un periodo de incubación entre la picadura del mosquito y el comienzo de los síntomas de 10 a 14 días. El cuadro clínico característico se resume básicamente en fiebre, escalofrío y sudoración, asociados a anemia, leucopenia, esplenomegalia y una evolución crónica con recaídas. La complicación más grave es la malaria cerebral causada por *P. falciparum*, en la que el secuestro de eritrocitos infectados en los vasos sanguíneos se asocia con la pérdida de conocimiento y la afección resulta letal si no es tratada a tiempo.^(12,13,14)

Tratamiento antimalárico

El tratamiento de la malaria ha sido posible, durante muchos años, por la existencia de medicamentos como las artemisininas, la quinina, la cloroquina, la amodiaquina, entre otros.

Todos ellos se utilizan para el tratamiento de la malaria y actúan, generalmente, sobre el estado asexual intraeritrocítico del parásito y se clasifican según su estructura química y su modo de acción.⁽¹⁵⁾ La mayoría de estos medicamentos actúan en los estadios intraeritrocíticos del parásito; sin embargo, presentan una serie de limitaciones de tipo farmacológico como la toxicidad variable, aunque el principal problema es el fenómeno de resistencia por parte del parásito.⁽¹⁶⁾ La elección de uno o más antimaláricos para el tratamiento está determinado por factores, tales como, la especie del parásito causante de la infección, el estado de inmunidad adquirida del paciente, la susceptibilidad-resistencia del parásito, el estado clínico del paciente y los recursos disponibles para los cuidados de su salud.⁽¹⁷⁾

En la malaria no complicada, que es producida en la mayoría de los casos por *P. falciparum* y *P. vivax*, los pacientes presentan síntomas sin signos graves o de disfunción de un órgano vital y toleran el tratamiento por la vía oral. Para la que se emplea la combinación de arteméter con lumenfantrina o con mefloquina o amodiaquina.⁽¹⁷⁾ En el caso de una infección por *P. vivax* se emplea la cloroquina como esquizonticida sanguíneo y la primaquina como esquizonticida tisular. La primaquina es activa contra los hipnozoítos por lo cual su función primordial es evitar las recaídas de las infecciones por *P. vivax*. Tiene poca actividad como esquizonticida sanguíneo, pero es activa contra los gametocitos.

Los estudios clínicos realizados hasta el 2018 pudieron comprobar la resistencia del *P. falciparum* a la cloroquina, sin embargo, no se han encontrado evidencias concretas de resistencia del *P. falciparum* o del *P. vivax* a otros esquizonticidas sanguíneos como la amodiaquina quinina, halofantrina y mefloquina.⁽¹⁸⁾ Todo paciente con malaria complicada, independiente del nivel de parasitemia, o sin complicaciones clínicas, pero con parasitemia igual o superior a 50 000 parásitos/mm³ o al 1 % de los eritrocitos, debe ser hospitalizado para iniciar el tratamiento con clorhidrato de quinina.⁽¹⁹⁾

Dianas terapéuticas

La biología y la bioquímica de *Plasmodium* son tópicos muy interesantes, la información en estos campos son los de mayor influencia en el diseño de nuevos fármacos antimaláricos.⁽¹⁹⁾ La acción de los antiplasmodiales en los estadios intracelulares de la etapa asexual en cultivo

in vitro se encuentra en un rango de IC₅₀ entre 1nM y 400nM y es donde la mayoría de los antimaláricos disponibles y candidatos antimaláricos fueron diseñados para atacar los patógenos.⁽²⁰⁾ Las concentraciones inhibitorias 50 (IC₅₀) de los principales antimaláricos y nuevos candidatos ampliamente estudiados a nivel *in vitro* en el ciclo de vida del *Plasmodium* se indican en la tabla 1.

Tabla 1 - Intervalo de actividad *in vitro* IC₅₀ de los antimaláricos ampliamente utilizados en todo el ciclo de vida del *Plasmodium*

Grupo químico	Medicamento y candidato antimalárico	Ciclo sexual/ mosquito	Ciclo sexual/ mosquito-humano	Ciclo asexual
		Oocistos	Micro/ macro gametocitos	Esquizontes sanguíneos
Endoperoxidos	Dihidroartemisinina*	10 μM > 90 %	10 μM > 60 %	≤ 15 nM
	Artemeter			
	Artemisinina			
	Artesunato			
	Artefenomel**			
	Arterolano***			
4-Quinilometanol	Mefloquina	10 μM > 90 %	10 μM > 60 %	≤ 10 nM
	Lumefantrina			
	Halofantrina			
	Quinina			
	Quinidina			
4- Aminoquinolinas	Amodiaquina	10 μM > 90 %	10 μM > 60 %	≤ 20 nM
	t-butil-isoquina			
	Pironaridina			
	Naftoquinona			≤ 400 nM
	Cloroquina			
	AQ-13			
Antibióticos	Atovaquona	10 μM > 80 %	10 μM > 60 %	≤ 100 nM
	Cicloheximida			
	Azul de metileno			≤ 1 nM
	Pirimitamina			
	Cicloguanil			

DHA; ** OZ439; ***OZ277.

En condiciones *in vitro* se considera que las cepas son resistentes si sus valores de IC_{50} son: > de 500 nM para la quinina, > de 100 nM para la cloroquina y > de 60 nM para la mefloquina.⁽²¹⁾ En la primera etapa de la infección, donde se da en pocos minutos la invasión de esporozoitos al hígado, después de ser liberado por la picadura del mosquito *Anopheles*, se generan especies del parásito latentes y en desarrollo durante varios días, este punto es crucial y se considera un “cuello de botella”. Se ha logrado evidenciar actividad en estadios del hepatocito de los principales antimaláricos con una $IC_{50} < 1 \mu M$.⁽²²⁾ El estudio dirigido hacia la búsqueda de moléculas que inhiban el parásito en la etapa temprana de la infección en el hepatocito, ofrecería una alternativa de protección contra la infección y, teóricamente, podrían eliminar al hipnozoito (parásito inactivo) y prevenir la reinfección por especies dominantes como *P. vivax* y *P. ovale*.⁽²³⁾

Las especies transmisoras de la enfermedad, macro y microgametocitos, también son consideradas un “cuello de botella” ya que son las especies que se transmiten al mosquito para la reproducción sexual. Los gametocitos, macho y hembra, se desarrollan dentro de un ambiente casi totalmente derivado de la sangre del huésped que puede proporcionar un canal ideal de suministro de fármacos para inhibir la transmisión del parásito al mosquito. Los antimaláricos presentan inhibiciones del 60 % a 10 μM sobre gametocitos intracelulares y microgametos del estadio sexual, igualmente en la etapa sexual sobre ooquinetos y oquistes, donde se han encontrado inhibiciones del 80 % y del 90 % a 10 μM respectivamente.⁽²⁴⁾ En la actualidad los principales fármacos empleados en el tratamiento como inhibidores del desarrollo de estas formas sexuales y asexuales son utilizados mediante terapia combinada con artemisininas (Tabla 2).

Tabla 2 - Dianas terapéuticas en la terapia contra *Plasmodium*

Blancos terapéuticos para malaria				
Ubicación	Vía/mecanismo	Molécula blanco	Terapias	
			Existentes	Nuevo compuesto
Vacuola digestiva	Biocrystalización del grupo hemo	Hemozoina	Derivados de cloroquina	Nuevas quinolinas
	Hidrólisis de hemoglobina	Plasmepsinas	---	Inhibidores de proteasas
	---	Falcipainas	---	Inhibidores de proteasas
	Generación de radicales libres	Desconocido	Artemisininas	Nuevos peróxidos
Mitocondria	Transporte de electrones	Oxidoreductasa citocromo <i>c</i>	Atovaquona	---
Apicoplasto	Síntesis de proteínas	Ribosoma apicoplasto	Tetraciclinas, clindamicinas	---
	Síntesis de ADN	ADN girasa	Quinolinas	---
	Transcripción	ARN polimerasa	Rifampina	---
	Biosíntesis de ácidos grasos tipo II	FabH,	----	Tiolactomicina
		FabI/PfENR (<i>Plasmodium falciparum</i> enoil-ACP reductasa)	--	Triclosan
	Síntesis de isoprenoides	DOXP (1-deoxy-o-zilulosa-5-fosfato) reductoisomerasa	---	fosmidomcina
	Farnesilación de proteínas	Farnesil transferasa	---	peptidomimeticos
Membrana del parásito	Síntesis de fosfolípidos	Transportador de colina	Quinolinas	G25 Dímeros dinucleósidos Derivados hexosas
	Transporte de membrana	Canales Transportadores de Hexosa		
Citosol	Metabolismo folato	Dihidrofolato reductasa	Pirimetamina, proguanil,	Cloroproguanil

		Dihidropteroato sintasa	sulfadoxina, dapsona	
	---	Timidilato sintasa	---	5-fluoroorotate,
	----	Lactato deshidrogenasa	---	Gossipol derivados
	---	Deformilasa peptídica	----	Actinonina
	Síntesis de proteínas	proteína de choque térmico	----	Geldanamicina
	Metabolismo del glutatión	Glutatión reductasa	---	Inhibidores de enzima
	Transducción de señales	Proteína quinasa	---	Derivados Oxindoles
	Desconocido	Ca ²⁺ - ATPasas	Artemisininas	
Extracelular	Invasión del eritrocito	Serina proteasas subtilisina	---	Inhibidores de proteasas

Los estudios en bioquímica y farmacológica sugieren que las cepas resistentes de *Plasmodium* a la cloroquina es un conjunto complejo de eventos.⁽²⁵⁾ Una de las vías y modos de acción de mayor relevancia reportados en la literatura es la inhibición de biocrystalización del grupo hemo generado, principalmente, por los derivados de la cloroquina, debido a que la muerte celular puede producirse como consecuencia de la cascada de eventos moleculares que incluyen respuestas al estrés oxidativo.⁽²⁶⁾ Sin embargo, se sugieren otras vías de importancia metabólica para el parásito como la hidrólisis de hemoglobina, la inhibición de la síntesis de proteínas o síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN), síntesis de ácidos grasos o isoprenoides,⁽²⁷⁾ farnesilación de proteínas entre otros procesos que se dan en el apicoplasto; una estructura dentro del parásito donde se fabrica el isopentenil pirofosfato (IPP).⁽²⁸⁾ Otros mecanismos se dirigen a la inhibición del metabolismo vía folato, el glutatión, transducción de señales, entre otros.⁽²⁹⁾

El parásito y la formación de β -hematina

En la mayor parte de su ciclo de vida en humanos, el plasmodio habita en los glóbulos rojos. Dentro de los eritrocitos, el evento inicial es la endocitosis de la hemoglobina, que es transportada hacia una organela denominada la vacuola digestiva ácida (PH 5,2), donde los parásitos procesan entre un 60 % y un 80 % de la hemoglobina presente en el glóbulo rojo. Es aquí donde la porción protéica (globina) se degrada a causa de una serie de enzimas proteolíticas, en las que se incluyen las plasmepsinas I, II y IV, proteasa histoaspártica (HAP),⁽³⁰⁾ falcipainas 2 y 3 y falcilisinias; para generar péptidos, los cuales son degradados a aminoácidos debido a la limitada capacidad del parásito para sintetizarlos. Lo que genera como subproducto el hemo libre ferriprotoporfirina (IX) (Fe(III)PPIX) o FP (el FP en la vacuola digestiva representa solo el 3-5 % del volumen total del parásito)⁽³¹⁾ que por encontrarse en un medio ácido, el hierro en la oxihemoglobina se oxida de Fe^{2+} a Fe^{3+} con la consecuente producción de un 0,5 equivalente molar de H_2O_2 .⁽³²⁾ Tanto el FP y el H_2O_2 son moléculas tóxicas que el parásito necesita destruir o neutralizar. El FP "libre" en eritrocitos infectados con *P. falciparum* ha sido cuantificado en 0,1-0,4 mM, incluso se ha llegado a estimar que la concentración local puede ser mucho mayor.⁽³³⁾

Esto sugiere que el parásito vive al "filo de la navaja", por lo que su mecanismo para la desintoxicación de FP debe ser preciso para evitar los efectos tóxicos de los residuos metabólicos de estos dos productos generados.⁽³⁴⁾ Se estima que el parásito realiza una detoxificación mediante uniones coordinadas entre los grupos carboxilato y los Fe^{3+} presentes en la FP, propiciando un fenómeno de biocristalización entre estos grupos, generando así un producto de color carmelita oscuro denominado hemozoina o pigmento malárico, el cual no es tóxico debido a su insolubilidad en agua a pH fisiológico o ácido.⁽³⁵⁾ La hemozoina fue descubierta por primera vez en el siglo XVIII por un médico italiano de apellido Lancini y ha despertado gran interés desde los ochenta. Estas moléculas se han caracterizado mediante difracción de rayos X y espectroscopia Mossbauer, la cual fue comparada con un compuesto de síntesis conocido como β -hematina. La inhibición de la desintoxicación FP causa una acumulación de moléculas tóxicas de FP que, eventualmente, destruyen la integridad de las membranas del parásito de la malaria.⁽³⁶⁾ El entendimiento de

este proceso de biocrystalización de FP ha llevado a la identificación de una serie de posibles nuevos compuestos antimaláricos (Fig. 1).

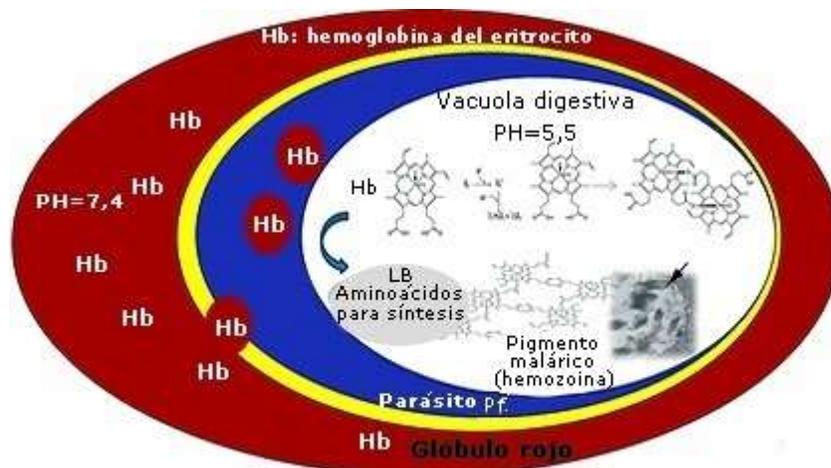


Fig 1 - Degradación del grupo FP en la vacuola digestiva del parásito de *P. falciparum*.

Una serie de bisquinolinas, xantonas, una nueva clase de complejos metálicos de coordinación, 8-aminoquinolinas, medicamentos antimaláricos sintéticos como el azul de metileno, y derivados, han demostrado tener actividades antimaláricas que están bien correlacionadas con sus capacidades para inhibir la polimerización del grupo FP. Sin embargo, los detalles moleculares de esta inhibición son desconocidos.⁽³⁷⁾

Se han propuesto varias hipótesis para explicar cómo la CQ inhibe la agregación de hemo libre (FP). Los primeros estudios sugirieron una estequiometría 1:2 para CQ y la unión FP.^(38,39) Sin embargo, estudios posteriores realizados por *Dorn* y otros⁽³⁵⁾ apoyaron la sugerencia anterior de *Moreau* y otros en 1982,⁽³⁴⁾ la cual consistía en la unión de la CQ de forma no covalente a la forma dimérica μ -oxo del hemo oxidado ($[FP]_2O$) con una estequiometría de 1 CQ: 2 oxo μ -dímeros, en forma de complejos en un mismo plano π - π apilados tipo sándwich.⁽³⁵⁾ Aunque los cristales del complejo nunca se han obtenido para confirmar este modelo, el fármaco-dímero complejo de la cloroquina se supone que impide la formación de la hemozoína por desplazamiento del equilibrio de dimerización FP al dímero de μ -oxo, impidiendo la reducción de la disponibilidad del monómero FP por la

incorporación de la hemozoína.⁽³⁷⁾ Otros modelos, sin embargo, sugirieron que la CQ se adsorbe sobre las caras del cristal de hemozoína, causando la inhibición, nucleación y crecimiento de la hemozoína.⁽⁴⁰⁾

Continúa el debate sobre si la CQ y compuestos similares se unen principalmente con el monómero FP, la forma μ -oxo dimérica de la FP, o en lugar de la actual estructura terminal de FP en las caras de crecimiento activo del cristal de hemozoína. La evidencia directa de unión del fármaco a hemo ya sea *in vivo* o *in vitro* aún no se ha determinado.⁽⁴¹⁾

En cuanto a las artemisininas, estas se diferencian notablemente con las quinolinas, aunque su mecanismo de acción es cuestión de varios estudios, su actividad biológica es dependiente de la ruptura del puente endoperóxido tras la interacción del Fe^{2+} del grupo hemo en el interior de la vacuola digestiva, generándose radicales libres que alquilan el grupo hemo, aunque también, el puente endoperóxido puede actuar a nivel de la formación de la hemozoína o como fuente de radicales hidroxilo y posiblemente sobre otras proteínas del parásito (Fig. 2).⁽⁴²⁾ Estudios recientes apuntan a que la artemisinina es un inhibidor de SERCA (Ca^{2+} ATPasa del retículo sarcoplásmico, PfATP6) de *Plasmodium*.⁽⁴³⁾

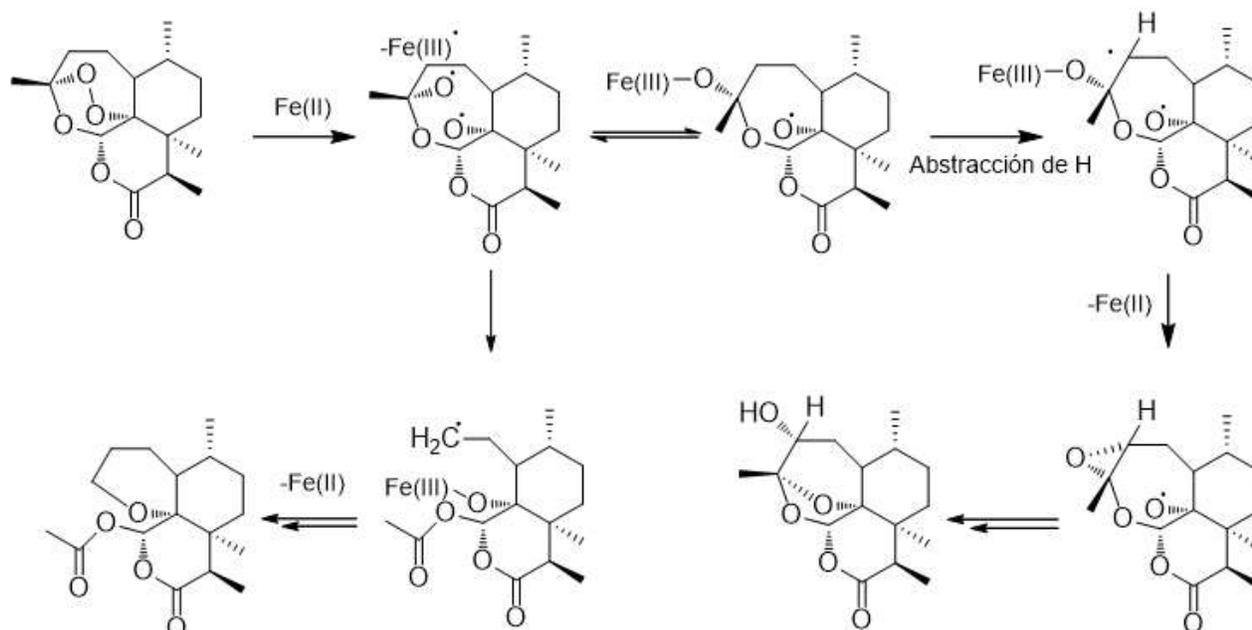


Fig. 2 - Mecanismo radicalario, interacción grupo FP con artemisininas.

La mayoría de los medicamentos antimaláricos en uso no son desarrollados sobre la base de dianas moleculares previamente identificados a nivel *in vitro*, pero a raíz de la determinación casual de la actividad antimalárica de productos naturales (por ejemplo, quinina y la artemisinina), gracias a una mejor comprensión de la bioquímica de los parásitos de la malaria, se han podido identificar muchos blancos potenciales para el diseño de nuevos medicamentos, los cuales ayudan a arrojar evidencias moleculares sobre el modo de acción de los fármacos más antiguos.^(44,45)

Conclusiones

El fortalecimiento y la validación de procesos enfocados en la búsqueda de dianas farmacológicas junto con la integración de nuevas tecnologías de la genómica, la transcriptómica y la proteómica ayudarán a los investigadores a identificar los mecanismos de acción de los fármacos más antiguos, principalmente aquellos centrados en estudios con la cloroquina y la inhibición de la biocrystalización del grupo hemo como modo de acción de más relevancia experimental y que es definido como potencial blanco terapéutico en el diseño de nuevos fármacos.

La oportunidad de estudiar la genómica, proteómica y la metabolómica del *Plasmodium*, permite obtener información sobre los genes relacionados con la acción ordinaria de la transcripción y su interacción con nuevos antimaláricos. Por otra parte, la separación precisa y selectiva de proteínas está avanzando rápidamente para *P. falciparum* lo que ha permitido orientar las investigaciones hacia el diseño de medicamentos más específicos mediante la modelación molecular. En este contexto sigue siendo relevante la identificación y el reconocimiento de diversas dianas para el diseño de nuevos fármacos que, por supuesto, deben ser validados en estudios *in vitro*, *in vivo*, preclínicos y clínicos, con la inclusión de la combinación de fármacos para un abordaje terapéutico multifactorial. De esta manera se pretende contribuir al control de esta devastadora enfermedad, donde se están presentando cepas resistentes de *Plasmodium*, además de un escaso acceso a los medicamentos, entre otros factores, que complican su prevención y tratamiento.

Agradecimientos

Los autores agradecen al grupo de investigación Malaria de la Universidad de Antioquia.

Referencias bibliográficas

1. World Health Organization. World malaria report 2017. Ginebra: WHO; 2017. p 196. [acceso 10/03/2019]. Disponible en: <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report/es/>
2. Organización Mundial de la Salud. Informe Mundial sobre el Paludismo 2016: resumen. Ginebra: OMS; 2017. [acceso 10/03/2019]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254914/WHO-HTM-GMP;jsessionid=A3E8217E85D91052A46A22CF44E35DB4?sequence=1>
3. World Health Organization. World Malaria Report 2018. Geneva: WHO; 2018. p 24. [acceso 10/03/2019]. Disponible en: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en
4. Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre el paludismo 2014. Ginebra: OMS; 2015 [acceso 10/03/2019]. Disponible en: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en
5. Organización Mundial de la Salud. Estrategia Técnica Mundial contra la Malaria 2016-2030. Ginebra: OMS; 2016. [acceso 16/06/2019] <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241564991/es/>
6. Bushell E, Gomes AR Sanderson T, Anar B, Girling G, Herd C, *et al.* Functional profiling of a Plasmodium genome reveals an abundance of essential genes. Cell, 2017;170(2):260-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.030>
7. Llorà-Batlle O, Tintó-Font E, Cortés A. Transcriptional variation in malaria parasites: why and how. Briefings in functional genomics. 2019;18(5):329-41. DOI: <https://doi.org/10.1093/bfpg/elz009>

8. Gelb MH. Drug discovery for malaria: a very challenging and timely endeavor. *Current opinion in chemical biology*. 2007;11(4):440-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.05.038>
9. Devlin JP. *High Throughput Screening: The Discovery of Bioactive Substances*. Florida, Estados Unidos: CRC Press; 1997. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781482269802>
10. Delves M, Plouffe D, Scheurer C, Meister S, Wittlin S, Winzeler EA, *et al*. The activities of current antimalarial drugs on the life cycle stages of Plasmodium: a comparative study with human and rodent parasites. *PLoS Med*. 2012;9(2):e1001169. DOI: [10.1371/journal.pmed.1001169](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001169)
11. Mesa-Vanegas AM. Potenciales candidatos antimaláricos y antiplasmodiales de origen natural y sintético. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 2018;47(3):375-99. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v47n3.77371>
12. Organización Mundial de la Salud. Bases del diagnóstico microscópico del paludismo – Parte I: Guía del alumno. 2a ed. abril de 2015; 2014 p. 86. [acceso 10/03/2016]. Disponible en: <https://www.who.int/malaria/publications/atoz/9241547820/es/>
13. OMS. Bases del diagnóstico microscópico del paludismo – Parte II: Guía del instructor. 2ª ed. Ginebra: OMS; 2014. 53 p. [acceso 10/03/2016]. Disponible en: <https://www.who.int/malaria/publications/atoz/924154791X/es/>
14. World Health Organization. *Guidelines for the treatment of malaria*. World Health Organization. Ginebra: WHO; 2015.
15. Olumese P. *Guidelines for the Treatment of Malaria*. World health organization (WHO). Ginebra: WHO; 2006. [acceso 10/03/2016]. Disponible en: https://www.unicef.org/supply/files/Malaria_Treatment_Guidelines.pdf
16. Rondón-Cotacio M, Tobón-Castaño A. Actividades de vigilancia epidemiológica de la malaria en la red diagnóstica de la frontera colombiana-peruana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2018;35:373-81. DOI: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3575>
17. Mesa-Echeverry E, Niebles-Bolívar M, Tobón-Castaño A.. Chloroquine–Primaquine Therapeutic Efficacy, Safety, and Plasma Levels in Patients with Uncomplicated Plasmodium vivax Malaria in a Colombian Pacific Region. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2019;100(1):72-77. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0655>

18. Mosquera-Romero M, Zuluaga-Idárraga L, Tobón-Castaño A. Challenges for the diagnosis and treatment of malaria in low transmission settings in San Lorenzo, Esmeraldas, Ecuador. *Malaria J.* 2018;17:440. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2591-z>
19. Chin J. (Ed.). El control de las enfermedades transmisibles (No. 581). Washington D.C.: Pan American Health Org; 2001.
20. Robert A, Dechy-Cabaret O, Cazelles J, Benoit-Vical F, Meunier B. Recent advances in malaria chemotherapy. *Journal of the Chinese Chemical Society.* 2002;49(3):301-10. DOI: <https://doi.org/10.1002/jccs.200200046>
21. Deharo E, Gautret P, Muñoz V, Sauvain M. Técnicas de laboratorio para la selección de sustancias antimaláricas. Corporación Iberoamericana CYTED, Institut de recherche pour le développement IRD; 2000. p.188.
22. Robert A, Dechy-Cabaret O, Cazelles J, Meunier B. From mechanistic studies on artemisinin derivatives to new modular antimalarial drugs. *Accounts of chemical research.* 2002;35(3):167-74. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar990164o>
23. González Pacanowska D. Nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de la malaria. *Enferm. emerg.* 2005;7(1):40-43.
24. Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. *Nature reviews Drug discovery.* 2004;3(6):509-20.
25. Swearingen KE, Lindner SE, Flannery EL, Vaughan AM, Morrison RD, Patrapuvich R, *et al.* Proteogenomic analysis of the total and surface-exposed proteomes of *Plasmodium vivax* salivary gland sporozoites. *PLoS neglected tropical diseases.* 2017;11(7):e0005791. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005791>
26. Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacology & therapeutics.* 1998;79(1):55-87. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(98\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(98)00012-6)
27. Röhrich RC, Englert N, Troschke K, Reichenberg A, Hintz M, Seeber F, Pfeiffer M. Reconstitution of an apicoplast-localised electron transfer pathway involved in the isoprenoid biosynthesis of *Plasmodium falciparum*. *FEBS letters.* 2005;579(28):6433-38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.10.037>

28. MacRaild CA, Pedersen MØ, Anders RF, Norton RS. Lipid interactions of the malaria antigen merozoite surface protein 2. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2012;1818(11):2572-78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.06.015>
29. Müller IB, Hyde JE. Antimalarial drugs: modes of action and mechanisms of parasite resistance. *Future microbiology*. 2010;5(12):1857-73. DOI: <https://doi.org/10.2217/fmb.10.136>
30. Kumar S, Guha M, Choubey V, Maity P, Bandyopadhyay U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β -hematin) formation: a mechanistic update. *Life sciences*. 2007;80(9), 813-828. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.11.008>
31. Fitch CD. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids, and the antimalarial actions of quinoline drugs. *Life sciences*. 2004;74(16):1957-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.10.003>
32. Asghari-Khiavi M, Vongsvivut J, Perepichka I, Mechler A, Wood BR, McNaughton D, Bohle DS. Interaction of quinoline antimalarial drugs with ferriprotoporphyrin IX, a solid state spectroscopy study. *Journal of inorganic biochemistry*. 2011;105(12):1662-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.08.005>
33. Banyal HS, Fitch CD. Ferriprotoporphyrin IX binding substances and the mode of action of chloroquine against malaria. *Life Sciences*. 1982;31(11):1141-44. DOI: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(82\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0024-3205(82)90088-1)
34. Moreau S, Perly B, Biguet J. Interactions de la chloroquine avec la ferriprotoporphyrine IX: Étude par résonance magnétique nucléaire. *Biochimie*. 1982;64(11-12):1015-25. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(82\)80382-9](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(82)80382-9)
35. Vippagunta SR, Dorn A, Ridley R, Vennerstrom JL. Characterization of chloroquine-hematin μ -oxo dimer binding by isothermal titration calorimetry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2000;1475(2):133-40. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(00\)00058-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(00)00058-1)
36. Egan TJ, Ncokazi KK. Effects of solvent composition and ionic strength on the interaction of quinoline antimalarials with ferriprotoporphyrin IX. *Journal of inorganic biochemistry*. 2004;98(1):144-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2003.09.007>

37. Alumasa JN, Gorka AP, Casabianca LB Comstock, E, De Dios AC, Roepe PD. The hydroxyl functionality and a rigid proximal N are required for forming a novel non-covalent quinine-heme complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2011;105(3):467-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.08.011>
38. Egan TJ. Recent advances in understanding the mechanism of hemozoin (malaria pigment) formation. *Journal of inorganic biochemistry*. 2008;102(5-6):1288-99. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2007.12.004>
39. Egan TJ. Interactions of quinoline antimalarials with hematin in solution. *Journal of inorganic biochemistry*. 2006;100(5-6):916-26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.11.005>
40. Zhang S, Gerhard GS. Heme activates artemisinin more efficiently than hemin, inorganic iron, or hemoglobin. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2008;6(16):7853-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.02.034>
41. Fitch CD. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids, and the antimalarial actions of quinoline drugs. *Life sciences*. 2004;74(16):1957-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.10.003>
42. Krishna S, Pulcini S, Fatih F, Staines H. Artemisinins and the biological basis for the PfATP6/SERCA hypothesis. *Trends in parasitology*. 2010;26(11):517-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.06.014>
43. Shandilya A, Chacko S, Jayaram B, Ghosh I. A plausible mechanism for the antimalarial activity of artemisinin: a computational approach. *Scientific reports*. 2013;3(1):1-7.
44. Muraleedharan KM, Avery MA. Advances in the discovery of new antimalarials; *Medicinal Chemistry*. 2007;2:765-814.
45. Vangapandu S, Jain M, Kaur K, Patil P, Patel SR, Jain R. Recent advances in antimalarial drug development. *Medicinal research reviews*. 2007;27(1):65-107. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.20062>

Conflicto de intereses

La autora declara que no tiene conflicto de intereses.

Financiación

La autora agradece el apoyo financiero brindado por la Universidad de Antioquia y la beca Doctoral Francisco José de Caldas 2010- Colciencias.