

Derivados N-metil, N-alkil-2-aminoindano, diseño, síntesis, citotoxicidad y efecto preliminar antiproliferativo sobre epimastigotes de *T. cruzi* *in vitro*

N-methyl, N-alkyl-2-aminoindane derivatives, design, synthesis, cytotoxicity and preliminar inhibitory growth activity on epimastigote form of *T. cruzi* *in vitro*.

DUERTO DE PÉREZ, Z.*¹; PÉREZ, J.¹; GÓMEZ, L.¹; VIVAS, J.²; ORFILA, L.³

Resumen

La quimioterapia del mal de Chagas requiere del diseño y desarrollo de nuevos compuestos específicos y no tóxicos. Los derivados con potencialidad tripanocida N-metil, N-alkil-2-aminoindano **4**, **5**, **7** y **8** se diseñaron a través de la modificación molecular de la terbinafina **2**, con el propósito de valorar tanto su citotoxicidad en líneas celulares BHK21 (riñón humano) y vero (riñón de mono) como su capacidad de inhibir el crecimiento *in vitro* de epimastigotes de *T. cruzi*. Los compuestos se sintetizaron con buenos rendimientos y se caracterizaron utilizando RMN¹H, IR, p.f, análisis elemental y espectrometría de masas. La relativa baja citotoxicidad, en las líneas celulares normales, mostrada por el derivado N-metil,N-bencil-2-aminoindano **5** y su actividad antiproliferativa, del orden de 37%, comparado con el control y el patrón de actividad terbinafina, nos anima a proseguir los ensayos y ampliarlos a la forma amastigote, forma intracelular de *T. cruzi*.

Palabras clave: síntesis; N-metil, N-alkil-2-aminoindano; actividad antiproliferativa; epimastigotes; *T. cruzi*; citotoxicidad; MTT.

Abstract

Chemotherapy against Chagas' disease requires design and development of specific and non toxic new compounds. N-methyl, N-alkyl-2-aminoindane derivatives **4**, **5**, **7** and **8** as potential tripanocidal agents were designed by molecular modification of terbinafine **2**, with the aim of assess their cytotoxicity in BHK21 (human kidney) and vero (monkey kidney) cell lines, as well as, their inhibitory growth activity on epimastigote form of *T. cruzi* *in vitro*. The compounds were synthesized with excelent yields and characterized by RMN¹H, IR, mp, elemental analyses and MS. The relative low cytotoxicity showed in normal cell lines by the N-methyl, N-benzyl-2-aminoindane derivative **5** and its 37% inhibitory growth activity in comparison with the control and terbinafine activity, encourage us to continue with the assays and expand them to the amastigote form of *T. cruzi*.

Key words: Synthesis; N-methyl, N-alkyl-2-aminoindane; inhibitory growth activity; epimastigote; *T. cruzi*; cytotoxicity; MTT.

Introducción

La enfermedad de Chagas permanece presente como uno de los grandes problemas de salud en el continente americano (Docampo, 2001). A pesar de los avances en bioquímica y fisiología de *T. cruzi*

(Urbina, 2002), Cerecetto y col., (2002), es imperiosa la búsqueda de nuevas, efectivas y selectivas drogas con disminuidos o carentes efectos tóxicos sobre el hospedador. En esta búsqueda, la sensibilidad de las formas extracelular e intracelular (epimastigote y amastigote) del parásito, es de especial interés.

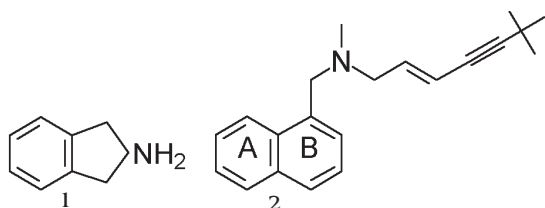
Estudios llevados a cabo en nuestro laboratorio reportan al 2-aminoindano **1** como sistema estructural capaz de atravesar barreras biológicas (Gómez,

¹ Laboratorio de Química Medicinal, Facultad de Farmacia, UCV.

² Laboratorio de Físicoquímica de Parásitos, IBE, UCV.

³ Laboratorio de Cultivo Celular, Facultad de Farmacia, UCV.

1990) y presentar además acción tripanocida en experimentos con *T. evansi*, *in vivo* y *T. cruzi*, *in vitro* (Gómez y col., 1990). El *T. cruzi* es sensible a los inhibidores de la biosíntesis de esteroides, desarrollados como agentes quimioterapéuticos antimicrobóticos, cuyo modo de acción es el agotamiento de esteroides esenciales endógenos o acumulación de intermediarios tóxicos, o ambos (Abe y col., 1994). Entre estos inhibidores está la alilamina terbinafina **2** (Lazardi y col., 1990), (Urbina y col., 1996).

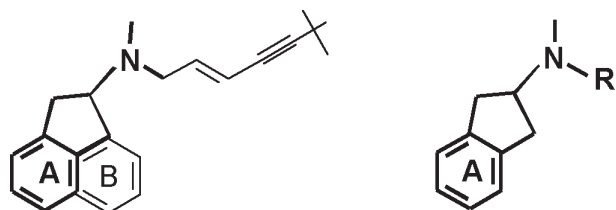


Tomando en consideración lo expuesto, se aplicó el método de modificación estructural, sobre la molécula biológicamente activa **2**, para diseñar el sistema N-metil, N-alquil-2-aminoindano (Figura 1). La aplicación del método incluye:

– Eliminar, en la estructura **2**, el anillo aromático **B** del fragmento naftaleno e introducir un átomo de carbono entre el anillo aromático **A** y el carbono bencílico, de tal manera de obtener el núcleo base 2-aminoindano capaz de atravesar barreras biológicas.

– Eliminar el fragmento *ter*-butil-acetilen-alil en **2** y sustituirlo con grupos funcionales que dentro de otras estructuras han sido reportados como relevantes para la acción tripanocida (Rodríguez, 2001), (Szjanman, 2001), (Szjanman y col., 2000), (Rodríguez y col., 1998), (Nussbaumer y col., 1994), (Gómez y col., 1990).

– Mantener la presencia del nitrógeno terciario alifático, ahora formando parte del núcleo semirrígido 2-aminoindano, para así introducir características electrónicas y estéricas que podrían ser de utilidad en el estudio de receptores biológicos.



Sistema N-metil, N-alquil-2-aminoindano

Compuesto	R
4	Alil
5	Bencil
7	Cloroetil
8	Tiocianoetil

Figura 1:

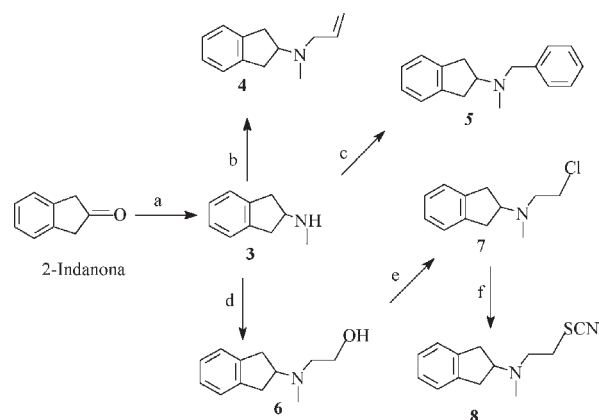
Aplicación del método de modificación estructural en el diseño del sistema N-metil, N-alquil-2-aminoindano, estructuralmente relacionado con terbinafina.

Materiales y métodos

Químico

Los compuestos diseñados se sintetizaron mediante procedimientos convencionales de síntesis (Esquema de Síntesis). El N-metil-2-aminoindano **3** se obtuvo a través de la aminación reductiva de la 2-indanona con borohidruro de sodio, (Cannon y col., 1979). Esta amina fue N-alquilada, con diferentes grupos funcionales utilizando el método de Pfeiffer y col. (1982), para generar los compuestos N-alquilados respectivos **4**, **5** y **6**. La síntesis del clorhidrato de N-metil, N-(2-cloroetil)-2-aminoindano **7** se llevó a cabo haciendo reaccionar el clorhidrato del alcohol **6** disuelto en benceno seco, con cloruro de tionilo (Hall y col., 1987). Finalmente, el compuesto **8** se obtuvo utilizando KSCN en etanol al 95% y reflujo a partir del derivado cloroetilado **7**.

Los puntos de fusión fueron tomados en capilares de vidrio, usando un aparato de punto de fusión Thomas–Hoover Uni-Melt y no están corregidos. Los espectros de resonancia magnética nuclear se tomaron en tubos de 5 mm de diámetro en un espectrómetro JEOL-Eclipse 270 MHz (UCV). Los desplazamientos químicos se reportan en ppm usando como solvente DMSO- d_6 y TMS como estándar interno. La multiplicidad de las señales se indica como: (s) singlete, (m) multiplete y (sa) señal ancha. El benceno se secó con sodio y destiló en un rango de 2 °C. Cloruro de tionilo se destiló en un rango de 1 °C. Los espectros infrarrojos fueron tomados en KBr utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer 1600 Series FTIR. Las absorciones más relevantes se reportan en centímetros recíprocos (cm^{-1}). La calibración fue hecha con poliestireno 1601 cm^{-1} . El microanálisis elemental fue realizado por Atlantic Microlab, Inc. Norcross, Georgia, USA. Los espectros de masa fueron tomados en espectrómetro VARIAN 3800 MS/GC (UCV). La cromatografía analítica de capa fina (TLC; R_f) se realizó sobre sílica gel-60F₂₅₄ y fue visualizada por UV.



Reactivos: a. MeNH₂, 40% en MeOH, NaBH₄. b. Bromuro de alilo, Na₂CO₃, EtOH 90% T.A / 12h. c. Cloruro de bencilo, Na₂CO₃, EtOH abs. T.A / 12h. d. Bromoetanol, Na₂CO₃, EtOH abs.T.A / 12h. e. SOCl₂, benceno, T.A / 24h. f. KSCN, EtOH 95%, reflujo 5h.

Síntesis del clorhidrato de N-metil-2-indanamina 3

Sobre 4,43 g (0,03352 mol) de 2-indanona (Aldrich) se agregó 25 mL de metanol. A esta solución metanólica, enfriada entre 0-5 °C en un baño de hielo, se le agregó 14,5 mL de solución acuosa de metilamina al 40% (0,168 mol). A la mezcla se añadió 1,6 g de borohidruro de sodio (0,04223 mol) en pequeñas porciones en un período de 20 minutos, manteniendo en todo momento la temperatura de la solución entre 0-10 °C. La mezcla resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente por una hora y luego se le agregó 15 mL de metanol y 4,47 g (0,042 mol) de carbonato de sodio. Finalizada la reacción, se sometió a evaporación bajo presión reducida y al residuo se añadió 15 mL de agua. La mezcla se extrajo con éter (6 x 25 mL). Los extractos etéreos fueron combinados y secados en MgSO₄; el filtrado fue evaporado a presión reducida. El sólido resultante fue tratado con ácido clorhídrico etéreo para producir un crudo sólido que al ser recristalizado en alcohol isopropílico caliente produjo 4,09 g (63,81 %) del clorhidrato, pf: 234-235 °C con desc. Lit.: 230-233 °C (Huebner, 1961) y 210 °C con desc. (Levin y col., 1944).

Síntesis del clorhidrato de N-metil, N-alil-2-aminoindano 4

Sobre una solución de 20 mL de etanol al 90% y 1,4 g (0,00762 mol) de clorhidrato de N-metil-2-indanamina **3** se agregó 1,615 g (0,01524 mol) de carbonato de sodio hasta alcanzar pH alcalino. Luego se incorporó, poco a poco, 0,922 g (0,0076 mol^a 0,66 mL) de bromuro de alilo (Aldrich) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 24 horas. La mezcla resultante se filtró, el residuo blanco fue lavado con etanol (2 x 5 mL). La evaporación del etanol a presión reducida produjo un sólido que se trató con éter saturado con HCl concentrado para producir la sal clorhídrica. La recristalización de esta sal en alcohol isopropílico caliente produjo 1,4 g (82,11%) del clorhidrato.

Síntesis del clorhidrato de N-metil, N-bencil-2-aminoindano 5

A 1 g (0,0054 mol) del clorhidrato de N-metil-2-indanamina **3** en 20 mL de etanol absoluto, se agregó 1,15 g (0,0108 mol) de carbonato de sodio hasta alcanzar pH 7,5-8,0. Luego se añadió, gota a gota, 0,6214 mL (0,0054 mol) de cloruro de bencilo (Aldrich). La mezcla se dejó durante la noche a temperatura ambiente y en agitación. La suspensión resultante se filtró, el sólido resultante se lavó con etanol absoluto (3 x 15 mL). La evaporación del etanol a presión reducida produjo un sólido que se trató con éter saturado con HCl concentrado para

obtener la sal clorhídrica. La recristalización de esta sal en alcohol isopropílico caliente produjo 1,25 g (83,89%) del clorhidrato.

Síntesis del clorhidrato de N-metil, N-(2-hidroxietil)-2-aminoindano 6

Sobre 1,4 g (0,0076 mol) de clorhidrato de N-metil-2-indanamina en 20 mL de etanol absoluto se agregó 2,48 g (0,0234 mol) de carbonato de sodio. Luego se añadió, gota a gota, 1 mL (0,0076 mol^a 0,9524 g) de bromoetanol y la mezcla se dejó en agitación durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y el solvente se evaporó a presión reducida para dejar un semisólido que se disolvió en éter etílico. Tratamiento de esta solución etérea con éter saturado con HCl concentrado produjo un sólido blanco. La recristalización de esta sal se realizó en alcohol isopropílico caliente, produciendo 1,7 g (98 %) del clorhidrato que luego de una caracterización parcial fue utilizado en la obtención de **7**.

Síntesis del clorhidrato de N-metil, N-(2-cloroetil)-2-aminoindano 7

A una mezcla de 1 g (0,0044 mol) del aminoalcohol **6** en 25 mL de benceno seco se agregó 8 mL (0,1096) de cloruro de tionilo. La reacción fue inmediata. El benceno y el exceso de cloruro de tionilo se evaporaron a presión reducida, obteniéndose un sólido que fue disuelto en agua y ácido clorhídrico diluido. Esta solución ácida se extrajo con éter etílico (2 x 10 mL). Luego la fase acuosa se alcalinizó con hidróxido de amonio concentrado hasta pH mayor de 10 y se extrajo con tetracloruro de carbono (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos fueron combinados y secados en MgSO₄. El filtrado fue evaporado a presión reducida para dar 0,803 g (86,8%) de la base libre en forma de un aceite que luego de disuelto en éter seco, se trató con éter saturado con ácido clorhídrico concentrado. El sólido obtenido fué recristalizado en alcohol isopropílico-éter etílico para dar 0,987 g (91,38%) del clorhidrato.

Síntesis del clorhidrato de N-metil, N-(2-tiocianoetil)-2-aminoindano 8

En la menor cantidad posible de etanol al 95% se disolvió 0,1736 g de sulfocianuro de potasio (el calor ayudó a la disolución). Utilizando una inyectadora se le agregó, en el lapso de una hora, 0,4 g (0,00163 mol) de clorhidrato de N-metil, N-(2-cloroetil)-2-aminoindano **7** previamente disuelto en la menor cantidad posible de etanol al 95%. La mezcla se dejó en reflujo por cinco horas y luego en agitación a temperatura ambiente durante la noche. Se filtró. La solución resultante se evaporó a presión reducida, el sólido fue recristalizado en alcohol isopropílico caliente obteniéndose 0,37 g (89,5 %) de la sal clorhídrica.

Tabla
Características físicas y datos espectroscópicos

N°	Rend (%)	P.f (°C) .HCl	IR (cm ⁻¹)	¹ H RMN (DMSO-d ₆) d (ppm)	MS.m/z (%)
4	82,11	201-203		2,64 (s, 3H, N-CH ₃); 3,25-3,95 (m, 7H, ArCH ₂ -CH-CH ₂ -, -CH-N, -N-CH ₂ -); 5,29-5,52 (m, 2H, -CH=CH ₂); 6,05-6,13 (m, 1H, -CH=CH ₂); 6,92-7,24 (m, 4H, ArH); 12,62 (sa, 1H, R ₃ N ⁺ H).	188 (M ⁺ -HCl) 100%.
5	83,89	200-202		2,12 (s, 3H, N-CH ₃); 2,54-3,65 (m, 6H, ArCH ₂ -CH-CH ₂ -, -N-CH ₂ -); 4,29-4,31 (m, 1H, -CH-N); 7,10-7,63 (m, 9H, ArH); 10,17 (sa, 1H, R ₃ N ⁺ H).	238 (M ⁺ -HCl) 100%
7	91,38	158-160		2,77 (s, 3H, N-CH ₃); 3,4-3,5 (m, 6H, ArCH ₂ -CH-CH ₂ -, -N-CH ₂ -); 4,06-4,16 (m, 3H, -CH-N-, CH ₂ Cl); 7,21-7,24 (m, 4H, ArH)	210 (M ⁺ -HCl)
8	89,5	178-180	2154 (SCN)	1,08-1,24 (m, 2H, CH ₂ -SCN); 2,18 (s, 3H, N-CH ₃); 2,27-2,83 (m, 6H, ArCH ₂ -CH-CH ₂ -, -N-CH ₂ -); 3,39-3,56 (m, 1H, -CH-N); 7,18-7,48 (m, 4H, ArH). Análisis Elemental calculado y encontrado (*)	232 (M ⁺ -HCl)

(*) Análisis elemental calculado (%): C 58,09; H 6,374; Cl 13,188; N 10,421; S 11,928.

Análisis encontrado (%): C 57,98; H 6,54; Cl 13,15; N 10,48; S 12,01.

Biológicos

1. Citotóxico

Se aplicó la metodología de Mosman (1983) y Denizot (1986) sobre líneas celulares normales BHK21 (riñón humano) y vero (riñón de mono). La viabilidad celular se analizó a través del método colorimétrico del MTT. Se calculó el porcentaje de citotoxicidad con respecto al control y se realizó la evaluación estadística. Los resultados se expresan en % de citotoxicidad según el cálculo: $\% C = 1 - (A/B) \times 100$, donde A = densidad óptica de células tratadas y B = promedio de densidad óptica de células control (Figuras 2 y 3).

2. Efecto inhibitorio de la proliferación de *T. cruzi*

Se aplicó el método de Castellani y col. (1967) sobre epimastigotes de *T. cruzi*, aislados de paciente (cepa EP), facilitados por el Centro de Biología Molecular de Parásitos (BioMolP) de la Universidad de Carabobo, mantenidos *in vitro* en el laboratorio por repiques sucesivos en medio de cultivo LIT. La cuantificación se realizó por procedimiento indirecto.

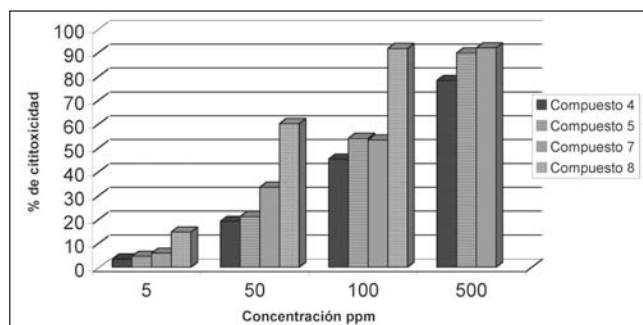


Figura 2

Efecto citotóxico en células BHK21

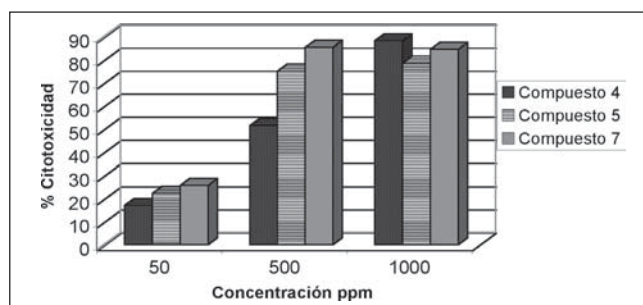
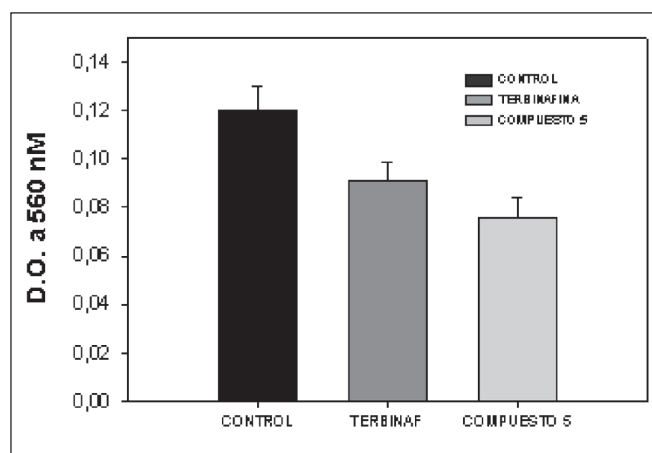


Figura 3

Efecto citotóxico en células vero

De un stock de 10 mM de cada droga, se hicieron diluciones seriadas para las concentraciones requeridas, diluyendo en DMSO a 100X. Se estudió el efecto antiproliferativo de cada compuesto químico a 100 mM, paralelamente a un cultivo control sin droga (Figura 4).



Resultados y discusión

La síntesis de los compuestos propuestos se logró, con excelente rendimiento y de acuerdo con el diseño y procedimiento sintético mostrado en el esquema de síntesis. En la obtención de los compuestos N-alkilados **4**, **5** y **6** se aplicó, con algunas modificaciones, el método de N-alkilación reportado por Pfeiffer y colaboradores, haciendo reaccionar la amina secundaria **3** con el bromuro de alilo, cloruro de bencilo y bromoetanol, respectivamente, a temperatura ambiente y utilizando como solvente etanol y carbonato de sodio como base. Bajo estas condiciones el rendimiento crudo de la reacción de N-alkilación fue bastante bueno. El compuesto N-metil, N-(2-hidroxietil)-2-aminoindano **6** se obtuvo sólo como material de partida para la obtención del derivado **7** y por esta razón fue caracterizado parcialmente. Sin embargo, la aplicación de la técnica de cromatografía en capa fina utilizando como sistema $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_4\text{OH conc.}$ (90:5:5) mostró, para este compuesto, una sola mancha con R_f 0,65 y su espectro infrarrojo mostró señales entre 3000 a 3500 cm^{-1} que se corresponden con bandas de estiramiento del grupo hidroxilo. La evidencia espectroscópica, la capacidad de formar la sal clorhídrica y la reacción con el cloruro de tionilo en la obtención del derivado **7**, junto a la caracterización total de **7**, son pruebas consistentes con la estructura asignada al compuesto **6**. La síntesis del clorhidrato de N-metil, N-(2-tiocianoetil)-2-aminoindano **8** se llevó a cabo utilizando KSCN en etanol al 95% y reflujo a partir del derivado cloroetilado **7** obteniéndose con

excelente rendimiento. La caracterización de los derivados obtenidos se realizó por RMN ^1H , espectrometría de masa, punto de fusión, análisis elemental y espectroscopía IR.

El experimento preliminar de inhibición del crecimiento de epimastigotes de *T. cruzi* in vitro, mostró para el compuesto **5** un valor de inhibición del orden de 37%, comparado con el control y la droga terbinafina que nos sirve de patrón conocido de actividad y desarrolló, además, baja citotoxicidad en las células vero y BHK21 ensayadas. El compuesto cloroetil **7** tiene una citotoxicidad alrededor de 25% menor que **8**, respuesta que no esperábamos dada su funcionalidad alquilante. Los derivados **4** y **5** presentan baja y similar citotoxicidad si se les compara con **7** y **8**, patrón que se repite en las diferentes concentraciones estudiadas. En líneas celulares vero se observa que el más citotóxico es el derivado cloroetil **7**. No se ensayó el derivado **8**. En líneas celulares BHK21 el compuesto más tóxico es el compuesto **8**, manteniendo este patrón de citotoxicidad en concentraciones de 5,50 y 100 ppm.

Conclusiones

El estudio de la inhibición de la proliferación in vitro de epimastigotes de *T. cruzi*, ensayado para el compuesto **5**, nos anima a continuar con los ensayos en epimastigotes y ampliarlos a la forma amastigote, tanto por las razones de facilidad de transporte en membranas biológicas que presenta su estructura base 2-aminoindano, como por la relativa baja citotoxicidad mostrada en células vero y BHK21 ensayadas. Así mismo, nos ofrece la oportunidad de continuar realizando modificaciones estructurales que contribuyan a potenciar dicho efecto.

El sistema N-metil, N-alkil-2-aminoindano diseñado incorpora características electrónicas y estéricas relativas al nitrógeno terciario alifático, que ahora en este sistema forma parte del núcleo semirrígido 2-aminoindano, lo que constituye un aporte a futuros posibles estudios, de receptores biológicos y sus requerimientos electrónicos y estéricos.

El diseño, síntesis y caracterización química de compuestos nuevos constituye, *per se*, un aporte a la investigación científica, así como lo es la conducción de experimentos biológicos con nuevos o ya conocidos derivados sintéticos, en la exploración de sus capacidades como agentes capaces de actuar contra agentes patógenos como *T. cruzi*, y que pudiesen significar avances en el desarrollo de nuevas estructuras y/o el mejoramiento de las características estructurales o fisicoquímicas de las mismas, con la finalidad última de una quimioterapéutica útil en la erradicación de la enfermedad de Chagas.

Bibliografía

- Abe, I.; Tomesch, J.C.; Wattanasin, S.; Pretswich, G.D.; 1994. Inhibitors of Squalene Biosynthesis and Metabolism. *Nat. Prod. Rep.*, 279-302.
- Cannon, J.G.; Pérez, Z.; Long, J.P.; Rusterholtz, D.B.; Flynn, J.R.; Costall, B.; Fortune, D. and Naylor, R.J.; 1979. N-Alkyl Derivatives of (\pm)- α -Methyldopamine. *J. Med. Chem.*, 8: 906-910.
- Castellani, O.; Ribeiro, L.B.; Fernandes, J.F.; 1967. Differentiation of *Trypanosoma cruzi* in culture. *J. Protozool.*, 14: 447-451.
- Cerecetto, H.; González, M.; 2002. Chemotherapy of Chaga's Disease: Status and New Developments. *Curr. Topics in Med. Chem.*, 2: 1187-1213.
- Denizot, F.; Lang, R.; 1986. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: modification to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Meth.*, 89: 271-277.
- Docampo R.; 2001. Recent Developments in the Chemotherapy of Chaga's Disease. *Curr. Pharm. Des.*, 7: 1157-1164.
- Gómez, L.F.; 1990. Síntesis de derivados de 2-aminoindano alquilantes y evaluación preliminar de sus posibles actividades quimioterapéutica y dopaminérgica. Trabajo de ascenso no publicado. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia.
- Gómez, L.F.; Pérez, J.; Duerto de Pérez, Z.; 1990. Síntesis de N,N-diethyl-2-aminoindano marcado con ^{14}C y Estudio de su distribución biológica en ratones y ratas. *Rev. Fac. Farmacia, UCV.* 53: 19-50.
- Hall, A.W.; Taylor, R.J.K.; Simmonds, S.H.; Strange, P.G.; 1987. *J. Med. Chem.*, 30: 1879-1887.
- Huebner, Ch. F.; 1961. 1-(N-methyl-N-propargylamino) indans and related compounds. *Chem. Abs.*, 61: P3046b.
- Levin, N.; Graham, B.E.; Kolloff, H.G.; 1944. Physiologically active indanamines. *J. Org. Chem.*, 9: 380-91.
- Lazardi, K.; Urbina, J.A.; De Souza, W.; 1990. Ultrastructural Alterations Induced by Two Ergosterol Biosynthesis Inhibitors, Ketoconazole and Terbinafine, on Epimastigotes and Amastigotes of *Trypanosomae (Schizotrypanum) cruzi*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34: 2097-2105.
- Mosman, T.; 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.*, 65: 55-63.
- Nussbaumer, P.; Leiner, I.; Stutz, A.; 1994. Synthesis and Structure Activity Relationships of the Novel Homopropargylamine Antimycotics. *J. Med. Chem.*, 37: 610-615.
- Blatt, A.H.; 1943. *Org. Syn. Coll. Vol. II*, Ed. John Wiley & Sons, pp. 366-367.
- Pheiffer, F.R.; Wilson, J.W.; Weinstock, J.; Kuo, J.Y.; Chambers, P.A.; Holden, K.G.; Hahn, R.A.; Wardell, J.R.; Tobia, A.J.; Setler, P.E.; Sarau, H.M.; 1982. Dopaminergic Activity of Substituted 6-chloro-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepines. *J. Med. Chem.*, 25: 352.
- Rodríguez, J.B.; 1998. Structure-activity relationship of new growth inhibitors of *Trypanosoma cruzi*. *J. Med. Chem.*, 41: 1540-1554.
- Rodríguez, J.B.; 2001. Specific Molecular Targets to Control Tropical Diseases, *Curr. Pharm. Design*, 7: 1105-1116.
- Szjanman, S.H.; Docampo, R.; Rodríguez, J.B.; Gros, E.G.; 2001. Diseño y síntesis de ariloxietil tiocianatos como potentes inhibidores de la proliferación de *Trypanosoma cruzi*. XIII Simposio Nacional de Química Orgánica «Dr. Eduardo Gros», 11-14 noviembre, Huerta Grande, Córdoba, Argentina.
- Szjanman, S.H.; Yan, W.; Bailey, B.N.; Docampo, R.; Elhalem, E.; Rodríguez, J.B.; 2000. Design and Syntheses of Aryloxyethyl Thiocyanate Derivatives as Potent Inhibitors of *Trypanosoma cruzi* Proliferation. *J. Med. Chem.*, 43: 1826-1840.
- Urbina, A.J.; 2002. Chemotherapy of Chaga's Disease. *Curr. Pharm. Des.*, 8: 287-295.

Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia (IIF) y Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento otorgado. A la doctora Mary Carmen Muiños y Laboratorio Novartis por proveer la terbinafina.

Recibido: noviembre 2003
Aceptado: septiembre 2004