

Pilar Terra¹, Claudia Veira¹, Rachel Ramos Granja^{1,3}, Hugo Cerecetto^{1,2}, Guzmán Álvarez³, Elena Aguilera¹



1- Grupo de Química Orgánica Medicinal, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, 11400, Uruguay.
2- Área de Radiofarmacia, Centro de Investigaciones Nucleares; Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, 11400, Uruguay
3-Laboratorio de Moléculas Bioactivas, Centro Universitario Litoral Norte, Universidad de la República, Paysandú, 60000, Uruguay.



INTRODUCCIÓN

La Leishmania Visceral y la enfermedad de Chagas son enfermedades desatendidas causadas por los protozoarios *Leishmania infantum* y *donovani*, y *Trypanosoma cruzi* respectivamente. A pesar de la existencia de fármacos como son el Nifurtimox (Nfx) para la enfermedad de Chagas y Miltefosina (Mtf) para la Leishmaniasis, provocan efectos adversos altamente tóxicos haciendo el uso de estos limitados y de alto riesgo. Por estas razones, son necesarios nuevos fármacos que sean accesibles para países terceromundistas y eficaces en fases crónicas de la infección [1-2].

METODOLOGÍA

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS

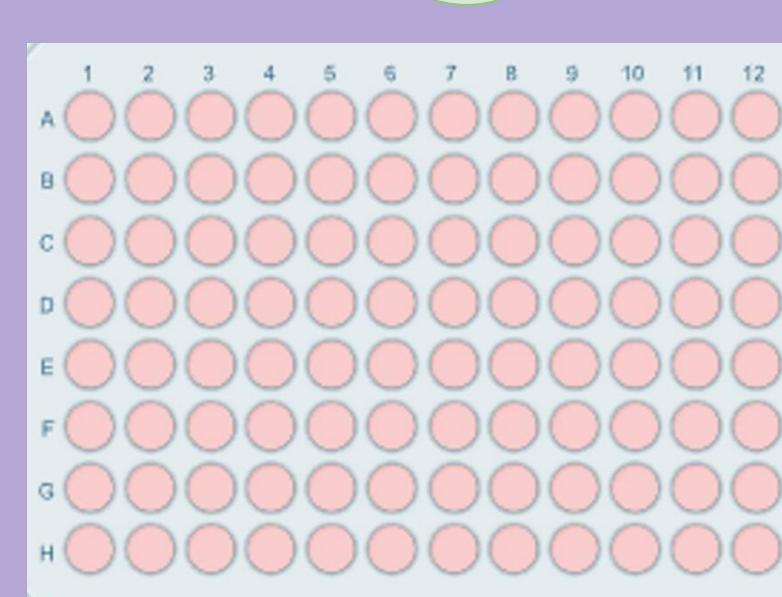
1		EVALUACIÓN DE COMPUESTOS			
1	2	3	4	5	6
A	$Cl_{50} A+B$ * 1/2 Cl_{50} A+B	3/4 Cl_{50} A+B	1/2 Cl_{50} A+B		1 ^{era} Combinación
B	1/4 $Cl_{50} A+B$	$Cl_{50} C+D$	3/4 Cl_{50} C+D		2 ^{da} Combinación
C	1/2 $Cl_{50} C+D$	1/4 Cl_{50} C+D	C (-)		Control negativo: Dimetilsulfóxido
D	C (-)	C (+)	C (+)		Control positivo: Nfx ó Mtf

Combinación (fármacos + moléculas sintéticas de reposicionamiento) + parásitos (epimastigote *T.cruzi*/ promastigota *L.infantum*) en fase exponencial

Se incuban por 5 días a 28°C. Se mide absorbancia a t=0 y t=5d y se calcula el porcentaje de inhibición de crecimiento (PI)

* Cl_{50} : concentración del compuesto capaz de provocar un 50 % de inhibición de crecimiento

CITOTOXICIDAD EN MACRÓFAGOS



Combinación + J774.1.

Análisis de sobrevida por MTT



Concentraciones por triplicado de: 200µM; 100µM; 50µM; 25µM

Cálculo del Cl_{50} e índice de selectividad (cociente entre Cl_{50} en macrófagos y el Cl_{50} en el parásito)

AGRADECIMIENTOS



BIBLIOGRAFÍA

- [1]-Álvarez G, Perdomo C, Coronel C, Aguilera E, Varela J, Aparicio G, Zolessi FR, Cabrera N, Vega C, Rolón M, Rojas de Arias A, Pérez-Montfort R, Cerecetto H, González M. Multi-Anti-Parasitic Activity of Arylidene Ketones and Thiazolidine Hydrazines against Trypanosoma spp. and Leishmania spp. *Molecules*. 2017; 22, 709.
[2]-Aguilera E, Sánchez C, Cruces M.E, Dávila B, Minini L, Mosquillo F, Pérez-Díaz L, Serna E, Torres S, Schini A, Sanabria L, Vera de Bilbao N.J, Yaluff G, Zolessi F.R, Ceilas L.F, Cerecetto H, Álvarez G. Preclinical Studies and Drug Combination of Low-Cost Molecules for Chagas Disease. *Pharmaceuticals*. 2023;16, 20.

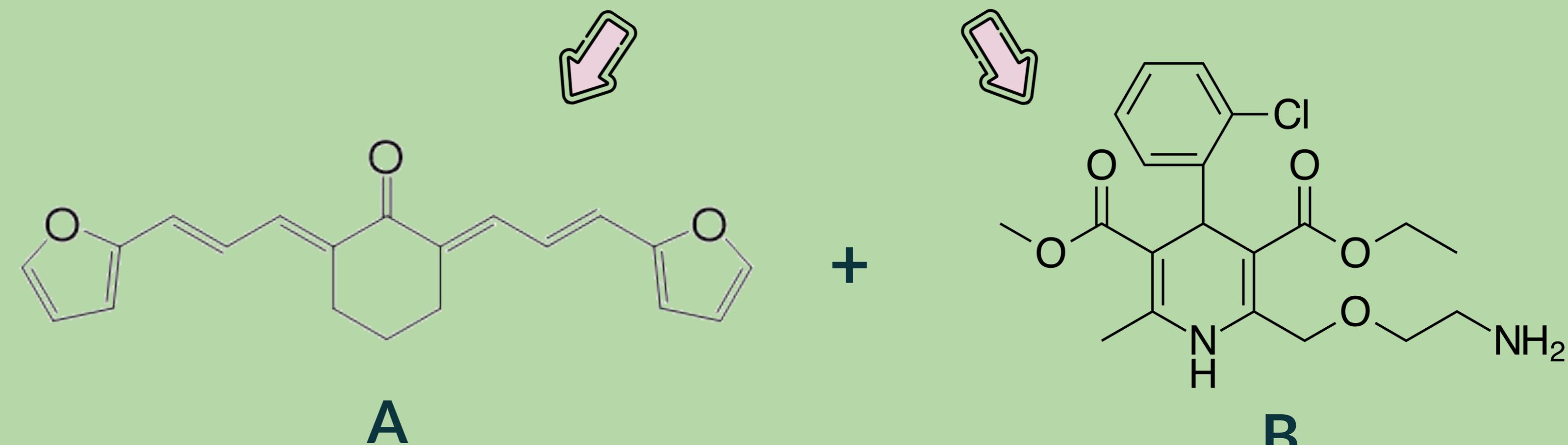
OBJETIVOS

Estudiar la combinación binaria de moléculas sintéticas con fármacos de acción anti-protozoarios, estudiando la citotoxicidad de las combinaciones de moléculas más relevantes con efecto sinérgico.

RESULTADOS

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS

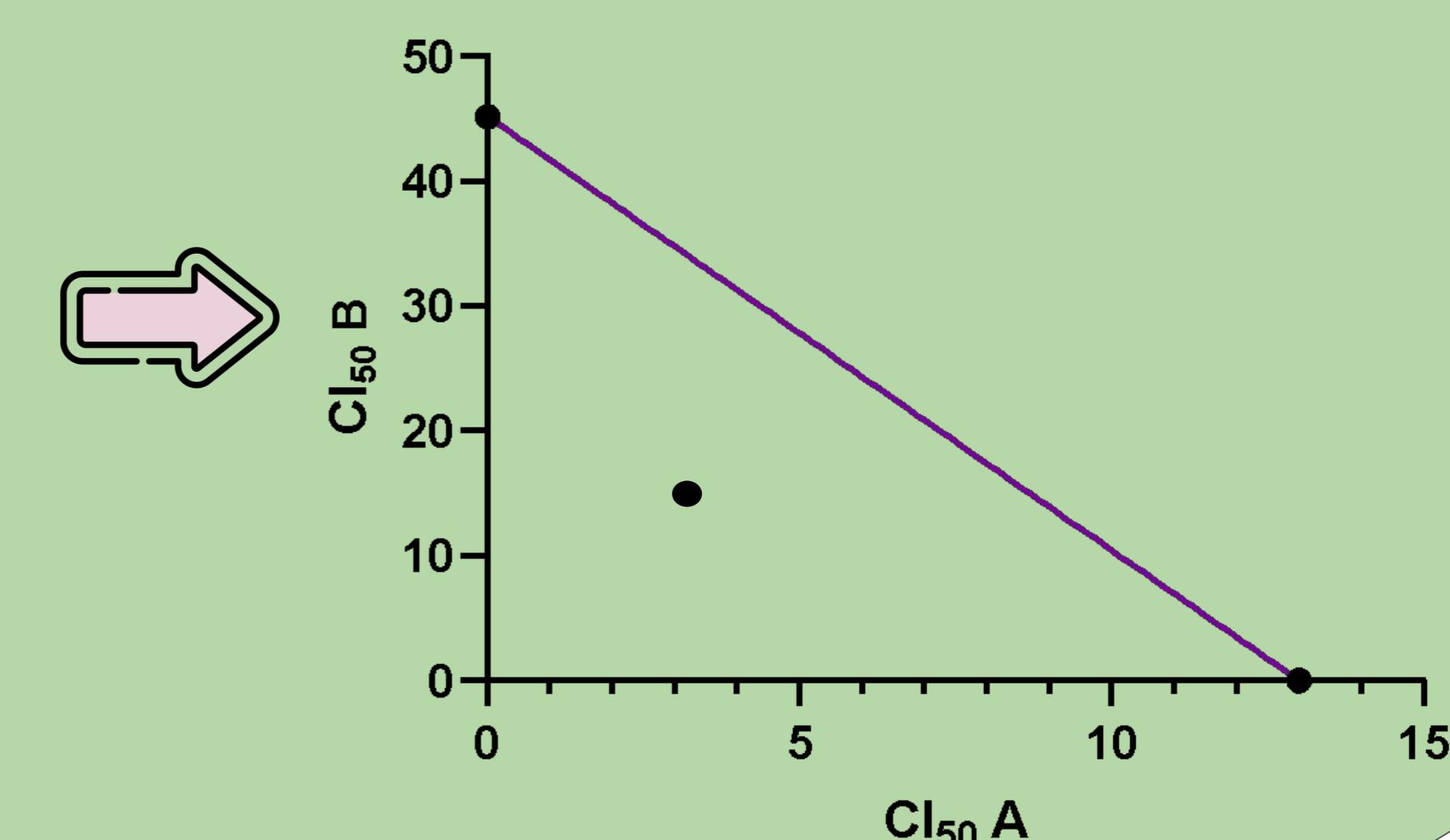
Se probaron hasta el momento 24 combinaciones en cada parásito, siendo 5 sinérgicas en *L.infantum* hasta el momento. Siendo la más relevante:



Con los valores obtenidos de PI se gráfica una sigmoidea ($\log([comuesto])/PI$) con el fin de obtener el nuevo Cl_{50} de la combinación.

Cl ₅₀ e IS de A y B en <i>L.infantum</i> en monodosis y combinación		
Compuesto	A	B
Cl ₅₀ Monodosis (uM)	13.0	45.2
Cl ₅₀ Combinación (uM)	3.3	11.3
IS Monodosis	0,8	2,1
IS Combinación	7,1	2,0

ISOBOLOGRAMA A+B



Con el nuevo Cl_{50} se realiza un isobolograma para concluir si la combinación fue sinérgica, aditiva o antagónica según el punto quede por debajo, sobre o por encima de la línea respectivamente.

CONCLUSIONES

La combinación fue sinérgica tal y como se observa en el isobolograma, obteniendo un índice de selectividad en la combinación 7 veces mayor que en monodosis para el compuesto A, y el mismo para B. Esto hace que la combinación sea candidata para futuros estudios *in vivo* en el modelo murino de Leishmaniasis Visceral y posibles estudios preclínicos como puede ser la teratogenicidad.

