

EVALUACIÓN DE DERIVADOS DE OXAZINAS COMO POTENCIAL TRATAMIENTO PARA LA GONORREA

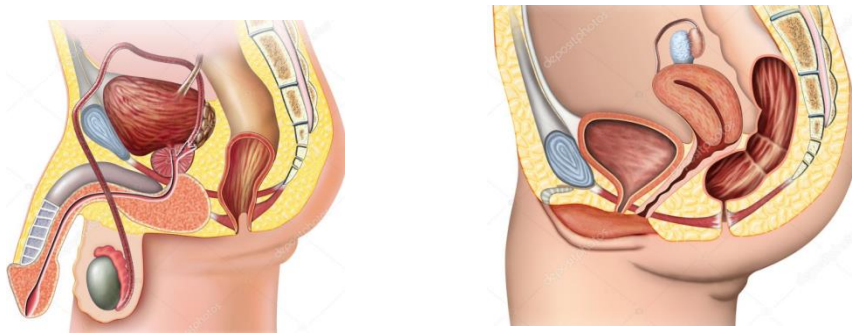
Perlbach¹, A. Quiroga¹, A. Gonzalez¹, C. Gai¹, M. Hualpa¹, M.Cabrini¹, P.
Cambuli², S. Díaz², T. Cano², C. Quintero^{1,2}

1- BioCyM-Universidad JA Maza 2-INBIOMED-FCM- Universidad de Mendoza.



INTRODUCCIÓN

La **GONORREA** es una **ITS**, causada por un patógeno Gram negativo, *Neisseria gonorrhoeae*. Tras la exposición, la bacteria infecta principalmente tracto urogenital, recto, faringe y conjuntivas.



Según la OMS, afecta a 78 millones de personas cada año

↓ DIAGNÓSTICO
Casos asintomáticos,
principalmente en mujeres.

↓ REGISTRO
Tratamiento teniendo en
cuenta exclusivamente el
cuadro clínico.

- Secreción purulenta
- Dolor, PID, embarazos ectópicos, abortos, obstrucción tubárica y esterilidad.
- Incrementa la transmisión de HIV.
- Conjuntivitis neonatal y ceguera

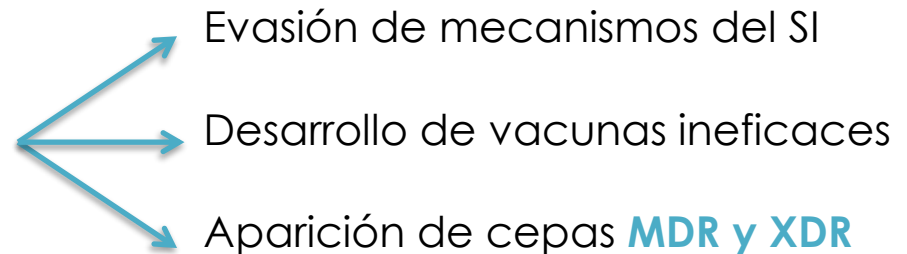


Es fundamental el **diagnóstico precoz** y la instauración de **tratamiento** para disminuir el contagio y evitar las consecuencias más severas.

TRATAMIENTO DE GONORREA, UN RETO CONSTANTE y COMPLEJO

A partir de 1930, se han empleado ATB para combatir este microorganismo. Desde entonces, se han descrito múltiples mecanismos de patogenicidad.

- Modulación de la superficie antigénica
- Mutaciones puntuales
- Mutaciones mediante ADN plasmídico



La industria farmacéutica evalúa constantemente la relación costo/beneficio de la generación de un nuevo ATB. Este proceso implica la inversión de millones de dólares y como mínimo 15 años, pero la bacteria podría generar resistencia en plazos mucho menores.

En 2017 y 2024, la OMS declaró a *N. gonorrhoeae* como una de las 12 bacterias de **prioridad alta** para la búsqueda de tratamientos efectivos innovadores.

La necesidad de desarrollar **nuevas moléculas con actividad biológica** contra esta infección es apremiante.

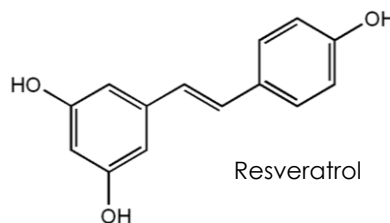


HIPÓTESIS

Diversas moléculas podrían presentar **actividad antimicrobiana** o como **coadyuvantes**

- Extractos naturales derivados de la **industria vitivinícola**

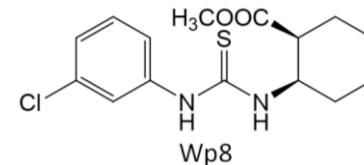
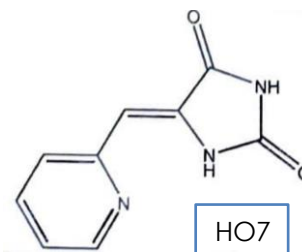
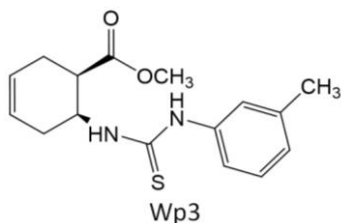
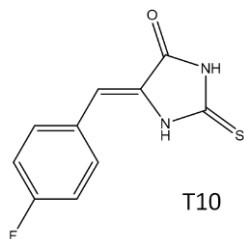
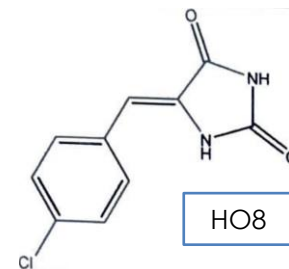
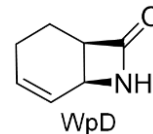
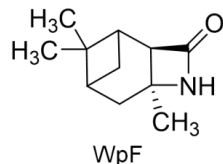
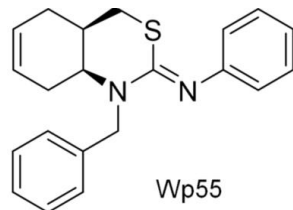
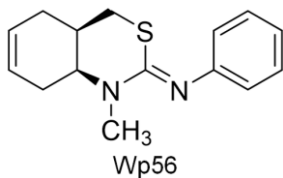
Existe evidencia de la disminución de crecimiento de *N. gonorrhoeae* frente a compuestos antioxidantes, principalmente el resveratrol.



Previamente: Extractos de yerba mate *Ilex paraguariensis* sin resultados favorables

- Moléculas orgánicas **sintéticas**: derivadas de oxazinas, nitrogenadas, azufradas y halogenadas, con acción antimicrobiana (aportadas por LABTERM).

Evaluados contra *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, etc.



OBJETIVOS

- Estudio **in silico** de los compuestos y sus derivados utilizando softwares PubChem y ACD.
- Antibiograma y Determinación **CBM** de cada bacteria frente a cada ATB.
- Ensayo de la **actividad antibacteriana** y como **coadyuvante** sobre *N. gonorrhoeae* aisladas en **cultivo**.
- Ensayo de la actividad antibacteriana sobre *N. gonorrhoeae* **intracelular**.
- **Diseño y síntesis** de nuevos derivados de oxazinas con potencial actividad antibacteriana.
- **Evaluación del impacto** de la alerta de 2017 de la OMS en publicaciones científicas relacionadas, a través del entrenamiento de

MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE COMPUESTOS

Extractos de **sarmientos** procedentes de *Vitis vinifera*

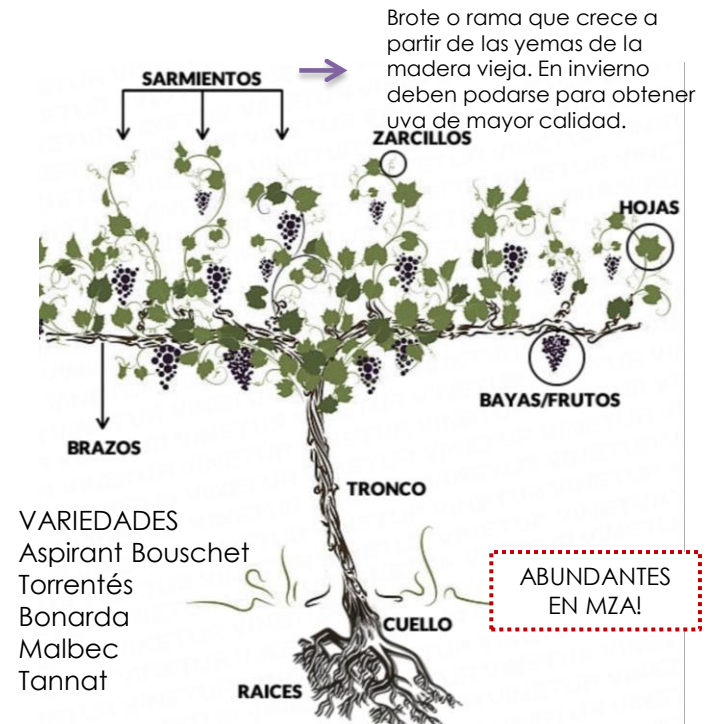
- **Chipeo**
- **Extracción:** 1:10 P/V con solvente C₂H₆O/ H₂O 50:50
- **Sonicación:** 15' a 25°C y 30' a 50°C
- **Centrifugación:** 5' a 3000 rpm
- **Filtración**

Solución de moléculas **sintéticas**

- EN DMSO al 5% + H₂O d

Microorganismos empleados

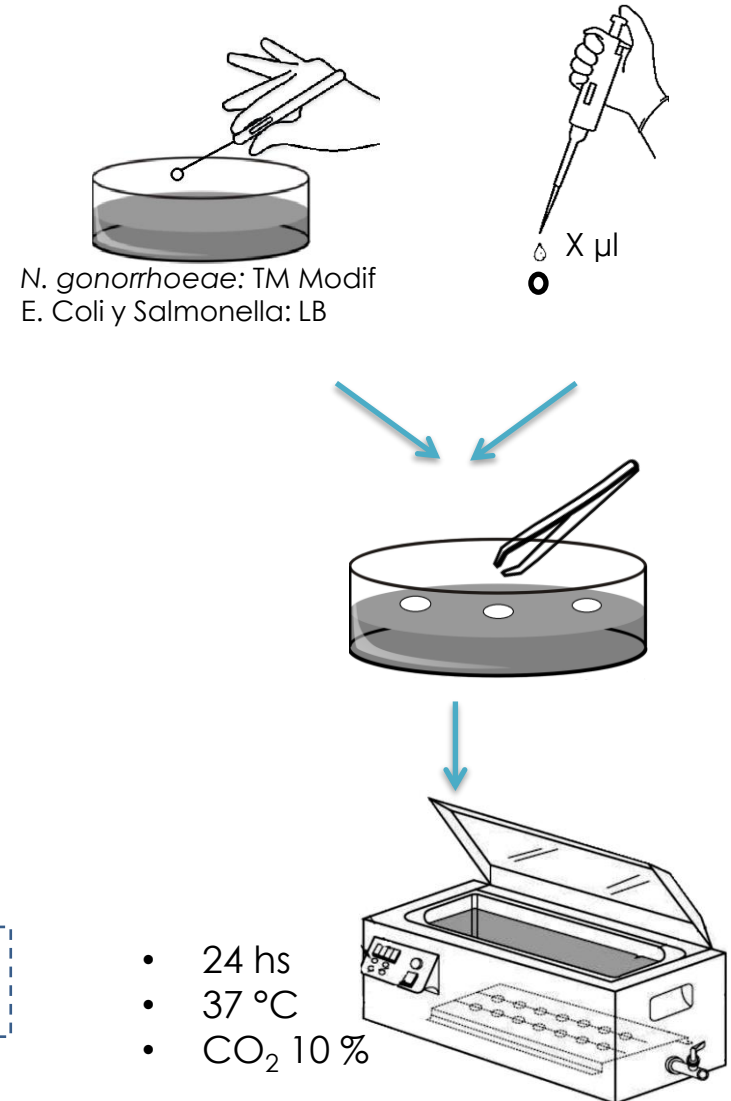
- Cepas de *Neisseria gonorrhoeae*: **F, G, K, L, M**. Siendo **L y M resistentes a Penicilina, y las restantes susceptibles a la misma.**
- Dos cepas de *Salmonella*, *hadar* (SHA) y *heidelberg* (SHE).
- Cepa de *Escherichia coli*.



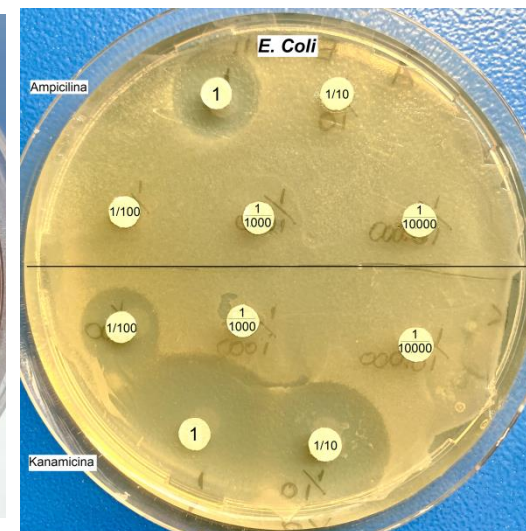
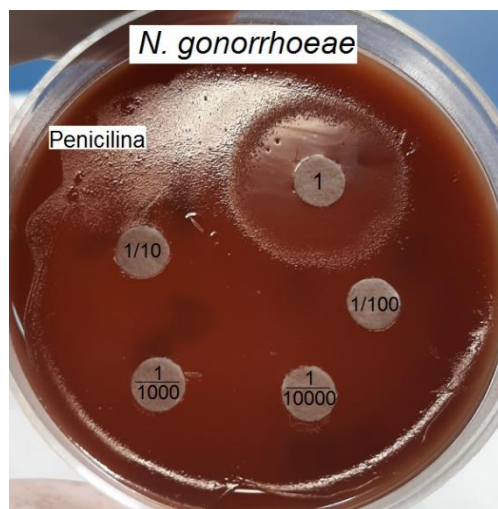
METODOLOGÍA: ENSAYOS DE MICRODIFUSIÓN

- Preparar **pre-cultivo** de cada microorganismo.
- Embeber discos de papel filtro esterilizados con la cantidad exacta (μl) de la solución correspondiente, para construir los **discos de inhibición**. Dejar secar.
- Colocar los discos sobre placas recientemente sembradas de forma masiva.
- Incubar a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Al cabo de 24 horas, observar el **patrón de crecimiento** en presencia de las moléculas sintéticas.
- Medir el diámetro del halo de inhibición, si existiese.

Cada objetivo requiere una solución / dilución / mezcla de soluciones, en una cantidad específica (μl).

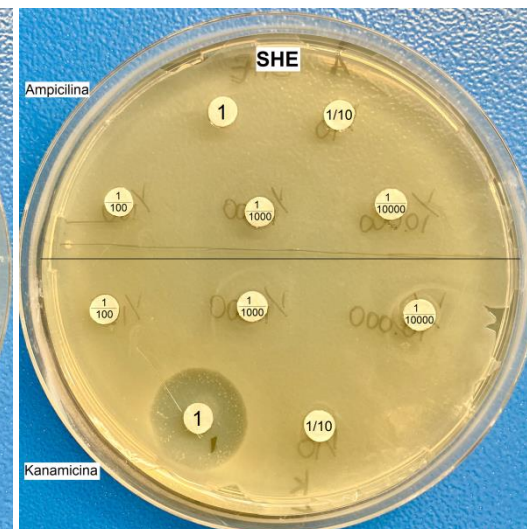
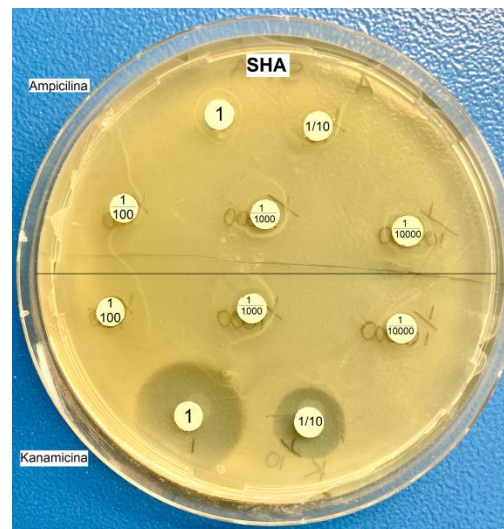


DETERMINACIÓN DE LA CBM DE ATB PARA CADA MICROORGANISMO



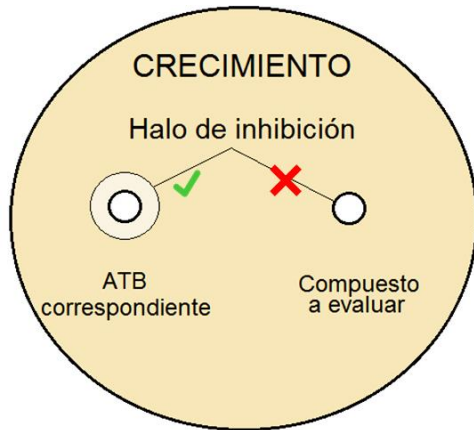
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS MOLÉCULAS SINTÉTICAS MEDIANTE ENSAYOS DE MICRODIFUSIÓN

Idéntico procedimiento con la diferencia que los discos estaban embebidos con: Molécula sintética + ATB correspondiente

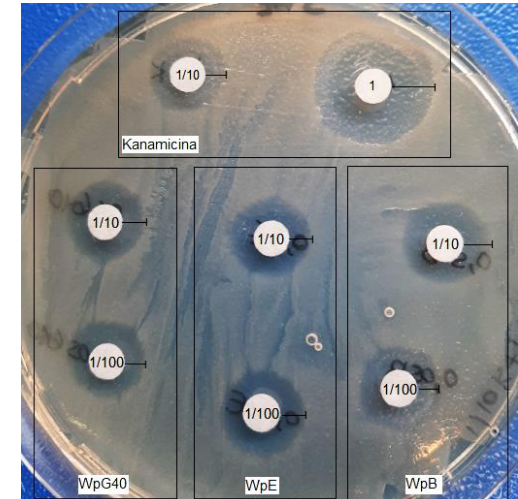
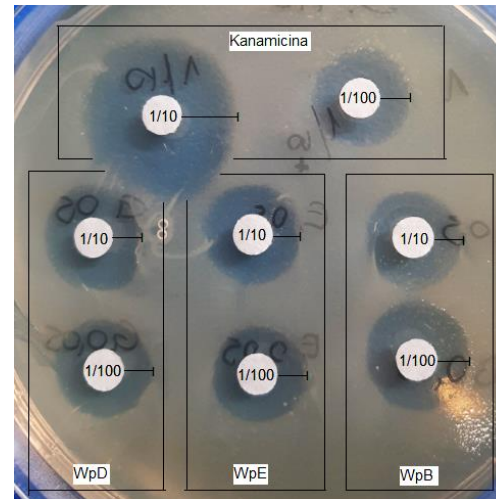
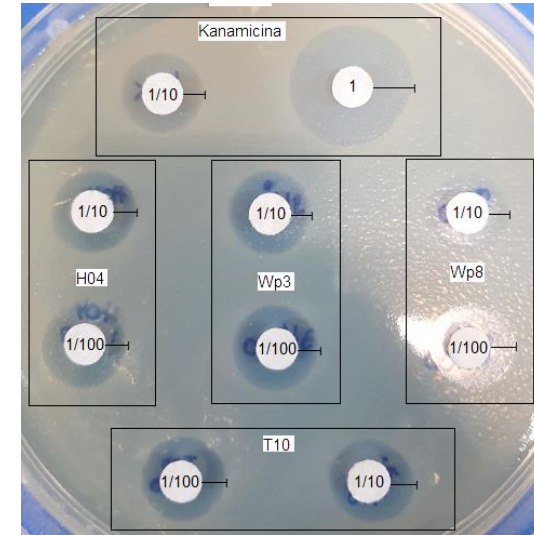
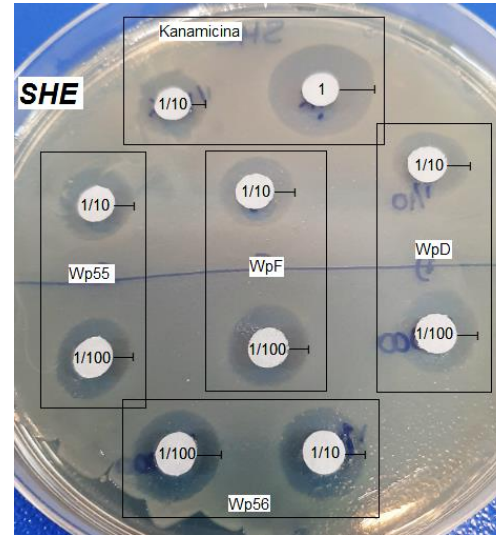


RESULTADOS

- Ningún compuesto presentó actividad microbiana por sí mismo.
- WpB, WpD, WpE, WpF, Wp3, Wp8, Wp55, Wp56, WpG40 y T10 presentaron actividad como coadyuvante en *Salmonella* (SHE).

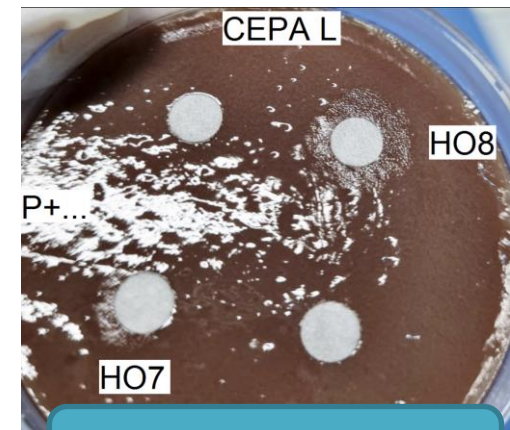
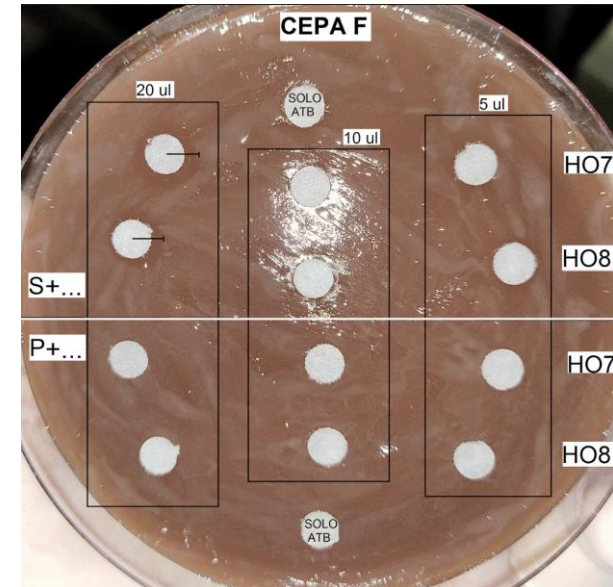


Compuestos frente a *N. gonorrhoeae* y
SHA



RESULTADOS

- Los extractos de sarmientos procedentes de *Vitis vinifera* no presentaron actividad antibacteriana o como coadyuvante de los antibioticos empleados en la terapéutica actual.
- Las moléculas HO7 y HO8 tendrían actividad como **coadyuvante** en la cepa F con S, y en cepa L con P. Los diámetros de los halos de inhibición indicarían que es dosis - independiente. Por el contrario, el crecimiento de *Salmonella* y *E. coli* no se vió alterado por la presencia de estas moléculas.



Moléculas con actividad como coadyuvante	<i>Salmonella Heidelberg</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
WpB, WpD, WpE, WpF, Wp3, Wp8, Wp55, Wp56, WpG40 y T10	✓	X
HO7, HO8	X	✓

CONTINUIDAD DEL PROYECTO

- **Modificación** en el método de preparación de los **sarmientos** a fin de aumentar la extracción de resveratrol y de otros compuestos antioxidantes.
- Suplementación con **resveratrol** a las moléculas disponibles.
- Continuación de los ensayos con las demás moléculas **sintéticas** disponibles, principalmente HO7 y HO8
- Evaluación del comportamiento de otros microorganismos en presencia de **HO7** y **HO8**.



EVALUACIÓN DE DERIVADOS DE OXAZINAS COMO POTENCIAL TRATAMIENTO PARA LA GONORREA

BioCyM - Universidad J. A. Maza. & INBIOMED - FCM - Universidad de Mendoza

En colaboración con LabTERM (Laboratorio Teórico Experimental de Reactividad Molecular) – Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba – Facultad de Ciencias Químicas. Investigador responsable: Dr. Walter Peláez.

CONTACTO: Quintero, Cristián Andrés - cquintero@umaza.edu.ar

