

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

A partir de la experiencia previa con *Chuquiraga erinacea* y el calenduladiol (**2**) abundante en sus extractos, así como la detección de actividad inhibitoria de acetilcolinesterasa (ACE) y butirilcolinesterasa (BuCE) de este metabolito y de los análogos obtenidos a partir de él,^{1,2} surgió el interés en optimizar la extracción de otros triterpenos encontrados en la planta (lupeol (**1**) y heliantriol B2 (**3**), Fig. 1), y llevar a cabo modificaciones a estas estructuras mediante reacciones químicas sobre los anillos A y D, así como sobre el grupo isopropenilo unido al anillo E, las cuales llevaron a la obtención de nuevos derivados que fueron evaluados en diferentes actividades biológicas.

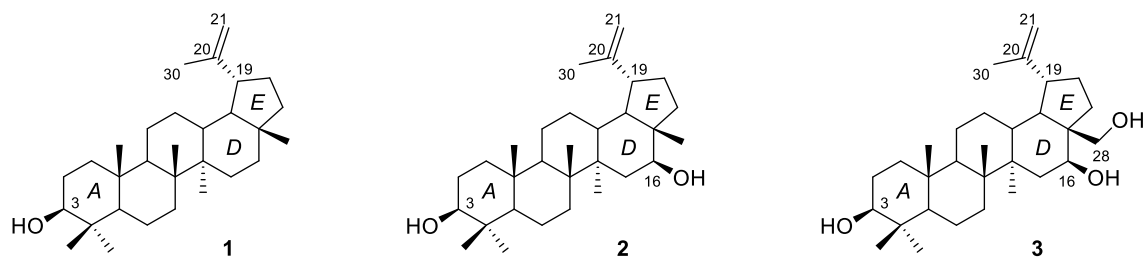


Figura 1. Estructura de lupeol (**1**), calenduladiol (**2**) y heliantriol B2 (**3**).

En primer lugar, se llevó a cabo la preparación de derivados mono-, di- y tricarbónicos de lupeol (**1**) y calenduladiol (**2**). Las reacciones de oxidación se llevaron a cabo mediante dos metodologías diferentes. Por un lado, la disolución del sustrato en acetona y su posterior tratamiento con el reactivo de Jones, condujo rápidamente a la oxidación del alcohol secundario en cetona, sin afectar el doble enlace presente en la molécula. Por otro lado, el tratamiento con exceso de SeO_2 del sustrato disuelto en EtOH y posterior calentamiento a reflujo, dio lugar a un grupo aldehído en C-30 formando un sistema carbonílico α,β -insaturado.

Las nuevas entidades moleculares fueron caracterizadas en forma completa con ayuda de diferentes técnicas de elucidación estructural.

Todos los análogos obtenidos fueron evaluados como potenciales inhibidores de ACE y BuCE. Los compuestos más activos frente a BuCE fueron los derivados de calenduladiol con un grupo carbonilo en C-16 y funcionalizados en C-3 y C-30 con diferentes grupos (metilo, hidroxilo o carbonilo). Estos resultados fueron corroborados a través de un estudio comparativo entre los análogos de lupeol y 16-oxocalenduladiol más activos, demostrando que aquellos derivados que presentan un grupo carbonilo en C-16 muestran una mayor inhibición enzimática respecto de los que tienen un metileno en la misma posición. Por lo tanto, la presencia de un grupo carbonilo en C-16 en estos triterpenos tipo lupano es fundamental para lograr una mayor actividad y selectividad frente a BuCE.

Este hallazgo sugiere que los derivados triterpénicos con un grupo carbonilo en C-16 podrían proporcionar una plantilla útil para el desarrollo de nuevos inhibidores de BuCE más selectivos. La importancia de este hecho se debe a que la actividad de BuCE aumenta a medida que progresa la Enfermedad de Alzheimer, lo que indica que esta enzima puede desempeñar un papel importante en las últimas etapas de la enfermedad.

Con el propósito de tener una visión molecular sobre el modo de acción de estos derivados 16-oxo sustituidos como inhibidores de BuCE, se llevaron a cabo estudios de modelado molecular utilizando tanto ACE como BuCE. Los estudios de *docking* que fueron realizados mediante una colaboración con la Dra. Victoria Richmond (UMYMFOR, UBA).³

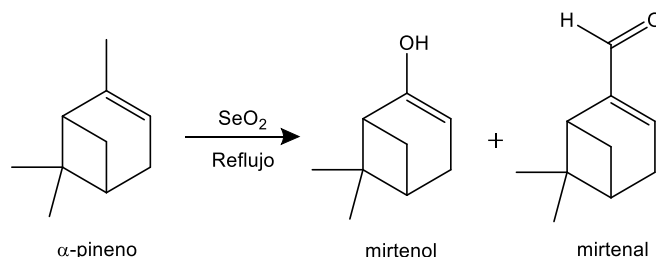
El lupeol (**1**) se encuentra en una gran cantidad de plantas, y junto a sus ésteres ha sido objeto de numerosos ensayos biológicos, principalmente en lo que respecta a sus propiedades antiinflamatorias.⁴ Teniendo en cuenta que se optimizó a partir de la especie *Chuquiraga erinacea* la extracción de lupeol, se propuso la obtención de nuevos derivados de lupeol

modificados en el anillo *E*, como potenciales agentes antiinflamatorios, a partir de la oxidación alílica del C-30 de la cadena lateral.

La metodología tradicional de oxidación de compuestos alílicos para la obtención de aldehídos α,β -insaturados de gran valor para la industria farmacéutica, emplea relaciones SeO_2 /sustrato elevadas, con tiempos de reacción muy largos (algunos hasta de 72 hs) y rendimientos moderados.^{3,5} Teniendo en cuenta estas desventajas surgió la necesidad de llevar a cabo estas transformaciones mediante el uso de catalizadores heterogéneos capaces de sustituir esta metodología. Para llevar a cabo este estudio se propuso el uso de α -pineno como compuesto modelo, y catalizadores heterogéneos de Pd y Pt.

Se ensayaron dos catalizadores, Pd (5%)/C, (100mg) y Pt (1%)/ SiO_2 , (30mg), en un reactor Parr de 50 ml empleando una solución 0.1M de α -pineno en tolueno, a temperaturas en el rango de 50-110°C y presiones de oxígeno de 2-6 atm. El catalizador Pt/ SiO_2 catalizó la reacción a mirtenal con una selectividad del 40% y una conversión de 50% en dos horas de reacción. Los perfiles catalíticos indicaron que la oxidación al aldehído es consecutiva a la del alcohol (Esquema 1). El catalizador Pd/C mostró la formación del correspondiente epóxido, que con el tiempo se desoxigenó al compuesto saturado.

Se observó, que si bien el catalizador Pt/ SiO_2 no es totalmente selectivo hacia el aldehído y se desactiva, presenta sitios activos para la oxidación alílica. Con el propósito de incrementar el rendimiento a mirtenal, se buscarán modificaciones de los parámetros de reacción y de la formulación del catalizador.⁶



Esquema 1. Oxidación alílica de α -pineno

Las enfermedades parasitarias causadas por nematodos tienen un profundo impacto en la nutrición, el crecimiento y las funciones cognitivas. Hasta la fecha, el control de los parásitos se ha logrado mediante el uso de productos sintéticos; sin embargo, el desarrollo de resistencia frente a la mayoría de los antiparasitarios se ha convertido en un problema importante en la salud pública y la medicina veterinaria.

Desde la antigüedad los productos naturales han desempeñado un papel vital en el sistema de atención de la salud y prevención de enfermedades. En este contexto, se propuso determinar la capacidad antihelmíntica de distintos extractos de especies vegetales de la provincia de Buenos Aires e identificar los metabolitos secundarios responsables de dicha actividad. Para este estudio, se utilizó como modelo de nematodo el gusano de vida libre *Caenorhabditis elegans*, y se seleccionaron extractos o compuestos que inmovilizaron al animal en un tiempo menor a dos horas para acotar los blancos de drogas a canales iónicos involucrados en la locomoción de nematodos, muchos de los cuales son blancos de fármacos actuales.

A partir de un *screening* realizado sobre extractos de especies de la región de Bahía Blanca pertenecientes a las familias Brassicaceae (*Diplotaxis tenuifolia*) y Asteraceae (*Gnaphalium leucocephalum*, *Hyalis argentea* y *Verbesina encelioides*) fue detectada actividad antihelmíntica en *D. tenuifolia*. El fraccionamiento guiado por el bioensayo de locomoción en *C. elegans* mostró la presencia de metabolitos activos en el sub-extracto de acetato de etilo por lo cual se procedió al aislamiento e identificación de los compuestos bioactivos. El análisis espectroscópico de una de las fracciones condujo al flavonoide glicosilado isoramnetina-3-O- β -

glucopiranosido. Se identificó por primera vez la presencia de este flavonoide en esta especie vegetal. Sin embargo, la actividad antihelmíntica del compuesto puro no reprodujo la actividad observada para el sub-extracto. Dado que algunas de las fracciones obtenidas conservaron la capacidad antihelmíntica, se propone al aislamiento y purificación de los metabolitos activos presentes.⁷

Asimismo, considerando que el núcleo tricíclico dibenzo[b,e]oxepinona, también conocido como “doxepinona”, constituye una estructura privilegiada presente en numerosos compuestos biológicamente activos, se llevó a cabo la evaluación de la actividad antihelmíntica de una pequeña biblioteca de derivados dibenzo[b,e]oxepinonas. Los resultados de actividad biológica indicaron que el derivado tricíclico oxigenado sin sustituyentes en los anillos aromáticos, produjo la completa parálisis del gusano (IC₅₀ = 389 ± 50 μM). Este trabajo se realizó en colaboración con el grupo de investigación del Dr. Gerbino (INQUISUR, UNS).⁸⁻¹⁰

Las plantas son verdaderas fábricas químicas por ser fuente de metabolitos secundarios farmacológicamente activos, llamados fitoquímicos. Un alto porcentaje de estos compuestos son usados en medicamentos para diversas terapias, pero generalmente se los utiliza sin el conocimiento de sus efectos secundarios, ni de los mecanismos moleculares que se activan en células mamíferas.

La familia Solanaceae contiene cantidades significativas de fitoestrógenos, y los mismos se encuentran en los extractos lipídicos de sus especies. Se observó que estos compuestos tienen similitudes estructurales con el 17β-estradiol de mamíferos (E2) y son capaces de unirse a los receptores de estrógenos (ERs), presentes en el tejido muscular esquelético.¹¹ Por este motivo se ha generado un interés considerable en el uso de estas especies vegetales como alternativa para la terapia de reemplazo hormonal (TRH), carcinogénesis, aterosclerosis y osteoporosis, debido a sus acciones preventivas o terapéuticas.¹² Por lo tanto, se propuso en colaboración con el grupo de investigación de las Dras Milanesi y Vasconsuelo (INBIOSUR, UNS) investigar los efectos de los extractos de *Nicotiana glauca* sobre células musculares esqueléticas murinas (línea celular C2C12).

En primer lugar, se obtuvo el extracto etanólico de *N. glauca* con el cual se trataron las células. Se observó, a nivel celular, morfología clásica de apoptosis: condensación/picnosis nuclear y reordenamiento mitocondrial utilizando un microscopio de fluorescencia invertido NIKON Eclipse Ti-S; y a nivel molecular, la activación de caspasas por clivaje del sustrato específico para caspasas 3/7 marcado con fluoróforo, y fragmentación de ADN mediante ensayo de TUNEL. Posteriormente, se fraccionó el extracto crudo con solventes de polaridad creciente: hexano, cloroformo y acetato de etilo, dando lugar a tres sub-extractos con los cuales se trataron nuevas células musculares. Se evidenció similar respuesta que con el extracto crudo, presentando el sub-extracto hexánico mayor capacidad para inducir apoptosis.

Dado que los ensayos se realizaron sobre mioblastos, células regeneradoras de músculo, los efectos observados de los extractos lipídicos de *N. glauca* sugieren que el uso medicinal de esta planta podría afectar la homeostasis del músculo esquelético.^{13,14}

Bibliografía

- 1- Vela, M.S.; Castro, M.J.; Richmond, V.; Faraoni, M.B.; Maier, M.S.; Murray, A.P. *Planta Med.*, 76, 607-61, 2010.
- 2- María Julia Castro, Victoria Richmond, Carmen Romero, Marta S. Maier, Ana Estévez-Braun, Ángel G. Ravelo, María Belén Faraoni, Ana Paula Murray, *Bioorg. Med. Chem.*, 22, 3341-3350, 2014.
- 3- María Julia Castro, Victoria Richmond, María Belén Faraoni, Ana Paula Murray, *Bioorganic Chemistry*, en prensa, 2018; doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.05.012>.
- 4- Nikiema J, Vanhaelen-Fastré R, Vanhaelen M, Fontaine J, De Graef C, Heenen M. *Phytother Res*, 15: 131-134, 2001.

- 5- Oliver Callies, Luis M. Bedoya, Manuela Beltran, *et al.*, *J. Nat. Prod.*, 78 (5): 1045-55, 2015.
- 6- Florencia Musso, M. Belén Faraoni y M. Alicia Volpe, *XX Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica*; Carlos Paz, Córdoba; 16-19 de Mayo de 2017. Libro de Resúmenes, 2017. Página 380.
- 7- María Julia Castro, Ignacio Bergé, María Belén Faraoni, Cecilia Bouzat, LXI reunión anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC), *LXIV Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología (SAI) y XLVIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Farmacología Experimental (SAFE)*; Mar del Plata, Buenos Aires; 16-19 de Noviembre de 2016. Revista Medicina, Buenos Aires, Volumen 76 - (Supl. I), 2016. Página 275.
- 8- Jimena Scoccia, M. Julia Castro, M. Belén Faraoni, Cecilia Bouzat, Víctor S. Martín, Darío C. Gerbino, *In Proceedings of the 20th Int. Electron. Conf. Synth. Org. Chem.*, 1-30 November 2016. Sciforum Electronic Conference Series, Vol. 20, 2016, a021; doi: 10.3390/ecsoc-20-a021. (<https://sciforum.net/conference/ecsoc-20/paper/3583>).
- 9- Jimena Scoccia, M. Julia Castro, M. Belén Faraoni, Cecilia Bouzat, Víctor S. Martín, Darío C. Gerbino, *Tetrahedron*, 73, 2913-2922, 2017.
- 10- M. Julia Castro, Jimena Scoccia, M. Belén Faraoni, Darío C. Gerbino, Cecilia Bouzat, *XXI Simposio Nacional de Química Orgánica*; Potrero de los Funes, San Luis; 08-11 de Noviembre de 2017. Libro de Resúmenes, 2017: página 260 (SO-33).
- 11- Milanese, L.P.; Boland, R., *Biochem. Biohys. Res. Commun.*, 289, 1175-1179, 2001.
- 12- Patisaul, H.B.; Jefferson, W.; *Front. Neuroendocrinol.*, 31, 400-419, 2010.
- 13- Florencia Musso, Darío Lincor, Andrea Vasconsuelo, Lorena Milanese y M. Belén Faraoni *XXI Simposio Nacional de Química Orgánica* Potrero de los Funes, San Luis; 08-11 de Noviembre de 2017. Libro de Resúmenes, 2017: página 196 (PNB-50).
- 14- Lincor D., Musso F., Vasconsuelo A., Faraoni M.B., Milanese L., *In Proceedings of the 21th Int. Electron. Conf. Synth. Org. Chem.*, 1-30 November 2017; Sciforum Electronic Conference Series, Vol. 21, 2017; doi: 10.3390/ecsoc-21-04784. (<https://sciforum.net/conference/ecsoc-21/paper/4784>).

22. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO

BUSQUEDA DE NUEVOS AGENTES ANTIHELMINTICOS A PARTIR DE ESPECIES VEGETALES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Este grupo de investigación se ha dedicado desde sus inicios a la búsqueda de productos naturales bioactivos, con particular interés en inhibidores de acetilcolinesterasa (ACE), utilizando como fuente la biodiversidad de la región de Bahía Blanca y zona de influencia. En este contexto, y considerando además la experiencia adquirida por la Dra. M. Julia Castro durante el desarrollo de su beca posdoctoral enfocada en el hallazgo de metabolitos secundarios con propiedades antihelmínticas, se propone como plan de trabajo para el próximo período la búsqueda de nuevos agentes antihelmínticos a partir de especies vegetales de la provincia de Buenos Aires.

Los parásitos nematodos causan mortalidad y morbilidad en la población humana y pérdidas considerables de ganado, animales domésticos y cultivos alimentarios. La prevalencia de infecciones humanas causadas por helmintos sigue siendo extremadamente alta y se estima que hasta un tercio de la población mundial alberga infección por helmintos, incluyendo los helmintos transmitidos por el suelo (STH), tales como el *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* y los dos anquilostomas *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*; la filariasis linfática (FL) causada por especies como *Brugia malayi* y también la filariasis subcutánea producida por especies tales como *Loa loa* y *Onchocerca volvulus* (oncocercosis o ceguera de los ríos). Miles de millones de personas están infectadas por helmintos en los países en desarrollo, lo que resulta en miles de muertes al año [1,2]. Sin embargo, el desarrollo de fármacos en esta área se ve limitado debido al hecho de que las parasitosis afectan principalmente a las poblaciones del tercer mundo con poco dinero para invertir en el descubrimiento de fármacos o terapias. Además, la resistencia de los nematodos a dicho número limitado de medicamentos se ha convertido en una preocupación mundial de salud veterinaria y también para la salud humana ya que las campañas de administración masiva de medicamentos para el control de las infecciones por helmintos humanos son cada vez más

generalizadas. Por tanto, existe una urgente necesidad de esfuerzos concertados para esta área de investigación.

El uso de extractos de plantas naturales como antiparasitarios se ha practicado en muchas culturas indígenas durante siglos. De hecho, en muchos países en desarrollo la etnomedicina sigue siendo la principal opción de tratamiento para muchas enfermedades parasitarias [3,4]. El empleo de extractos vegetales tiene varias ventajas que los hacen atractivos para su uso en países en desarrollo tales como el bajo costo, el acceso a grandes cantidades de materia prima y una fácil integración en la práctica cultural tradicional [3,5]. Sin embargo, la validación científica de estos tratamientos tradicionales es insuficiente. La mayoría de los estudios que han investigado el potencial antiparasitario de plantas medicinales tradicionales se han centrado en los extractos preparados a partir de una selección limitada de plantas, aislando, en la mayoría de los casos, los componentes químicos del extracto, sin identificar el o los metabolitos activos y menos aún los blancos de acción [6]. Son escasos los antecedentes bibliográficos que describen los compuestos activos aislados a partir de fuentes naturales responsables de la actividad antihelmíntica, entre los que se destacan taninos condensados [7,8], alcaloides [9] y terpenoides [10]. Claramente, hay una necesidad de estudios más sistemáticos para identificar y validar el uso de las plantas como antihelmínticos.

Los parásitos nematodos no son animales ideales de laboratorio adecuados para la detección de drogas por muchas razones, incluyendo la dificultad para la manipulación genética, el problema de mantenerlos con vida fuera de sus huéspedes, y la necesidad de contar con los animales hospedadores infectados. En este contexto, el nematodo de vida libre *Caenorhabditis elegans* se ha convertido en un modelo de sistema de gran alcance, ya que comparte muchas de las características fisiológicas y farmacológicas con nematodos parásitos, es sensible a la mayoría de los fármacos antihelmínticos, y las diferencias de muchas de sus proteínas con las de los nematodos parásitos no es mayor que las encontradas entre diferentes especies de parásitos. *C. elegans* es atractivo para las pruebas de drogas, porque los gusanos son pequeños, transparentes (lo que facilita la observación de su desarrollo temprano bajo el microscopio), de fácil cultivo, y muy factibles para la manipulación genética. Este nematodo también se ha mostrado prometedor en la búsqueda de la industria farmacéutica de nuevos compuestos terapéuticos para varias enfermedades [11-15].

Por todo lo expuesto, el hallazgo de nuevos compuestos antihelmínticos que puedan ser utilizados como líderes para el desarrollo de terapias contra este tipo de enfermedades, es nuestro principal objetivo.

Este plan de trabajo cuenta con la colaboración de la Dra. Cecilia Bouzat, (INIBIBB-UNS), donde se llevará a cabo la actividad antihelmíntica utilizando el nematodo modelo *C. elegans*.

Objetivos e hipótesis del Plan de Trabajo a realizar

En ensayos preliminares se ha detectado actividad antihelmíntica en las especies *Diplotaxis tenuifolia* (Brassicaceae) y *Thelesperma megapotamicum* (Asteraceae) [16]. Bajo la hipótesis de que la actividad observada podría llevar al descubrimiento de nuevos antihelmínticos, se propone realizar un estudio fitoquímico de los extractos activos de estas especies recolectadas en la provincia de Buenos Aires, utilizando como modelo al gusano de vida libre *C. elegans*. Este organismo es un excelente sistema para el *screening* de compuestos con potencial actividad antihelmíntica debido a su sencillez y facilidad de mantenimiento en el laboratorio.

Los objetivos propuestos para llevar a cabo este plan son:

- Realizar el fraccionamiento bioguiado de los extractos etanólicos y/o de los sub-extractos activos de *D. tenuifolia* y *T. megapotamicum*.
- Seleccionar los extractos que muestren un efecto dentro de las dos horas de exposición al nematodo para proseguir a la identificación de los compuestos activos.

- Aislar, identificar y caracterizar individualmente el/los metabolito/s obtenidos a partir del fraccionamiento, mediante la aplicación de distintas técnicas cromatográficas y espectroscópicas.
- Determinar la actividad antiparasitaria de los metabolitos aislados midiendo en *C. elegans* la inducción de parálisis mediante ensayos en placas de agar y alteraciones en la locomoción mediante el recuento de número de movimientos sinusoidales/ min.

Metodología

En ensayos preliminares realizados sobre extractos de plantas nativas o endémicas de la región que no han sido estudiadas previamente en cuanto a su capacidad nematocida, se ha detectado una prometedora actividad antihelmíntica en *D. tenuifolia* y *T. megapotamicum*. En este plan se propone someter a estas especies vegetales a un estudio químico detallado y de bioactividad *in vivo* que podrían llevar, eventualmente, al aislamiento de nuevos compuestos líderes para la obtención de agentes antihelmínticos naturales para el tratamiento de enfermedades parasitarias.

La recolección de las especies vegetales *D. tenuifolia* y *T. megapotamicum* se realizará en la Provincia de Buenos Aires, y se llevará a cabo en el período de floración. La determinación taxonómica será realizada por especialistas del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la UNS, en cuyo herbario se depositará un ejemplar de cada especie estudiada. En caso de ser factible, se analizarán las distintas partes de la planta por separado (hojas, tallos, flores). El material vegetal será pulverizado hasta obtener un polvo fino para ser utilizado en la elaboración de los extractos.

El material vegetal necesario para desarrollar este plan de trabajo será recolectado en Noviembre de este año. Se depositará un ejemplar de cada especie en el herbario del DBByF de la UNS, y se guardará en el freezer del Laboratorio de Productos Naturales del INQUISUR (CONICET-UNS) hasta el comienzo de la beca.

Preparación de los extractos: el material vegetal finamente pulverizado, será pesado y sometido a un proceso de maceración con etanol durante 2-10 días a temperatura ambiente. Posteriormente, el macerado será filtrado y concentrado a sequedad en rota evaporador a una temperatura no mayor a 40°C, obteniéndose el extracto orgánico, que será liofilizado en caso de ser necesario.

Aislamiento de compuestos bioactivos: el extracto etanólico, o sub-extractos provenientes de la partición por solventes, que mostraron parálisis en *C. elegans* mediante ensayos en placas de agar y alteraciones en la locomoción, se purificarán principalmente mediante distintas técnicas cromatográficas. Se empleará cromatografía en capa delgada, en columna, líquida de alta resolución, etc., y distintas fases estacionarias: silicagel de fase normal, fase reversa C18, alúmina, Sephadex LH-20, etc. La purificación será monitoreada por TLC y RMN-¹H. Los compuestos bioactivos puros serán caracterizados por sus propiedades físicas y análisis elementales (C, H), y sus estructuras serán determinadas por métodos espectroscópicos: RMN mono y bidimensional, UV-visible, IR, y espectrometría de masa (alta y baja resolución). En caso de ser necesario se realizarán derivatizaciones químicas de los compuestos que ayuden a su identificación. Finalizado el aislamiento e identificación de los compuestos bioactivos se cuantificará la actividad antihelmíntica.

Pruebas de actividad biológica: el cultivo de *C. elegans* y los ensayos para pruebas de locomoción y parálisis, ya están implementadas en el Laboratorio de Neurofisiología y Farmacología Molecular del INIBIBB (CONICET-UNS) [16-19]. Los nematodos *C. elegans* se cultivarán en agar NGM (*Nematode Growth Medium*) conteniendo bacterias OP50 a 15-25°C [11].

Se harán ensayos de comportamiento sobre cepa salvaje (N2) para verificar el efecto rápido de los compuestos bajo estudio. Es esperable que compuestos que actúen alterando la función de receptores o proteínas involucrados en el funcionamiento muscular tengan una acción rápida sobre el parásito. Por tal motivo, en este plan nos concentraremos en extractos que muestren actividad dentro de las dos horas de exposición con el fin de detectar principalmente

compuestos que actúen sobre este tipo de blancos. El **ensayo de parálisis** monitorea la sensibilidad de *C. elegans* al efecto paralizante de diferentes drogas. Los gusanos (30-40), adultos jóvenes, se exponen a placas de agar conteniendo el compuesto a estudiar y se cuenta el número de gusanos paralizados cada 15 minutos [17]. Además, se puede determinar para un tiempo fijo el grado de parálisis en función de la concentración del compuesto en agar. El tipo de parálisis se determina por el cambio en el fenotipo del gusano. Se utilizará el ensayo de parálisis de levamisol como ensayo de referencia para parálisis espástica y de piperazina, para parálisis flácida [18]. El **ensayo de movilidad** mide en medio líquido el número de movimientos sinusoidales por unidad de tiempo en 10 gusanos para cada condición [18,19].

Este plan de trabajo corresponde al plan de investigación que está llevando a cabo a partir del 1 de mayo de este año, bajo mi dirección, y la co-dirección de la Dra. M. Julia Castro, el alumno avanzado de Licenciatura en Química Braian Siben, quién obtuvo una Beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas (Becas EVC-CIN), Convocatoria 2017. Las pruebas de actividad biológica se llevarán a cabo en el Lab. de Neurofisiología y Farmacología Molecular del INIBIBB (UNS), a cargo de la Dra. Cecilia Bouzat.

Se cuenta con recursos financieros provenientes de subsidios vigentes otorgados por SGCyT-UNS, CIC y CONICET para llevar a cabo el plan propuesto.

Bibliografía

- [1] De Silva NR, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. *Trends in Parasitology*, 2003, 19 (12), 547-551.
- [2] Laymanivong S, et al. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2014, 90 (4), 667-669.
- [3] Tanner S, Chuquimia-Choque ME, Huanca T, et al. *Social Science & Medicine*, 2011, 72, 701-709.
- [4] Stangeland T, Dhillion SS, Reksten H. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, 117, 290-299.
- [5] Gazzinelli A, Correa-Oliveira R, Yang GJ, Boatman BA, Kloos H. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 6, 2012, e1603.
- [6] Githiori JB, Höglund J, Waller PJ. *Animal Health Research Reviews* 6, 2005, 91-103.
- [7] Williams AR, Fryganas C, Ramsay A, Mueller-Harvey I, Thamsborg SM. *PLoS ONE*, 2014, 9 (5), e97053.
- [8] Hoste H, Mortiz-De-Montellano C, Manolaraki F, Brunet S, et al. *Veterinary Parasitology*, 2012, 186, 18-27.
- [9] Waechter A, Cavé A, Hocquemiller R, Bories C, Muñoz V, Fournet A. *Phytotherapy Research*, 1999, 13 (2), 175-177.
- [10] Abdel Rahman F, Alaniz N, Saleh M. *Journal of Environmental Science and Health*, 2013, 48, 16-22.
- [11] Brenner S. *Genetics*, 1974, 77, 71-94.
- [12] Strange K. *Physiological Reviews*, 2003, 83, 377-415.
- [13] Dimitriadi M, Hart AC. *Neurobiology of Disease*, 2010, 40, 4-11
- [14] Segalat L. *ACS Chemical Biology*, 2006, 1, 277-278.
- [15] Artal-Sanz, et al. *Biotechnology Journal*, 2006, 1, 1405-1418.
- [16] Castro MJ, Bergé I, Faraoni MB, Bouzat C. *Medicina (Buenos Aires)*, 2016, 76 (Supl. I), 275-276.
- [17] Hernando G, Bouzat C. *PLoS One*, 2014, 9 (4), e95072.
- [18] Hernando G, Bergé I, Rayes D, Bouzat C. *Molecular Pharmacology*, 2012, 82 (3), 550-60.
- [19] Jones A, Rayes D, Diwani A, Maynard T, Jones R, Hernando G, Buckingham S, Bouzat C, Sattelle D. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286, 2550-2558.