

# Informe final publicable de proyecto

## Síntesis y evaluación in vitro de nuevos compuestos antihelmínticos a partir de la optimización de inhibidores de la enzima metionina aminopeptidasa

Código de proyecto ANII: FCE\_3\_2022\_1\_172770

Fecha de cierre de proyecto: 01/12/2025

**MELIAN FUREST, María Elisa** (Responsable Técnico - Científico)

**COLOBBIO DE LA CRUZ, Maximiliano** (Co-Responsable Técnico-Científico)

**TEIXEIRA LLUVIERA, Ramiro** (Investigador)

**RAMOS GRASSO, Juan Carlos** (Investigador)

**SALDAÑA CABRERA, Jenny Carolina** (Investigador)

**SILVERA MESTA, Mauricio Manuel** (Investigador)

**DOMÍNGUEZ LLERA, Laura** (Investigador)

**DUARTE ZAMORA, Gerardo Andrés** (Investigador)

**INCERTI GIACONI, Marcelo** (Investigador)

**LUZARDO BERRIEL, Martín Feliciano** (Investigador)

**MANTA ARES, Eduardo** (Investigador)

**MEDEIROS PEREYRA, Andrea** (Investigador)

**MUNGUÍA TARALLO, Ana Beatriz** (Investigador)

**NIEVES GARCÍA, Magdalena** (Investigador)

## Resumen del proyecto

Las infecciones por parásitos intestinales representan un problema importante para la producción ganadera, ya que afectan la salud de los animales y generan pérdidas económicas significativas. El uso intensivo de los medicamentos disponibles ha favorecido la aparición de resistencia, lo que hace necesario desarrollar nuevos compuestos antiparasitarios.

En este proyecto se exploró una estrategia innovadora basada en el diseño de híbridos moleculares, es decir, nuevas moléculas que combinan fragmentos de compuestos con actividad biológica conocida, con el objetivo de mejorar su eficacia y sus propiedades farmacológicas. En particular, se trabajó a partir del fármaco comercial fenbendazol y de estructuras relacionadas con las bengamidas, compuestos que inhiben una enzima clave para el desarrollo de los parásitos (la metionina aminopeptidasa).

Durante el proyecto se logró la síntesis final de seis nuevos compuestos, organizados en dos familias: una que incorpora heterociclos (como piridina y tiazol) y otra que incluye fragmentos relacionados con aminoácidos, buscando mejorar la interacción con el blanco biológico y propiedades como la solubilidad y la biodisponibilidad. Todos los compuestos fueron evaluados mediante ensayos *in vitro* frente a *H. contortus*.

Si bien no se identificaron, en esta etapa, moléculas con actividad antiparasitaria, el trabajo permitió obtener información valiosa sobre la relación entre la estructura química de los compuestos y su actividad biológica. Además, se identificaron limitaciones asociadas a la síntesis y a la solubilidad, y se desarrollaron protocolos experimentales reproducibles que fortalecen la plataforma de investigación.

En conjunto, los resultados demuestran la viabilidad del enfoque de la hibridación molecular como estrategia de diseño racional y aportan conocimientos fundamentales para orientar el desarrollo futuro de nuevos antiparasitarios. Este proyecto sienta así una base sólida para la optimización de compuestos con potencial aplicación en el control de helmintos en el sector agropecuario.

**Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Químicas / Química Orgánica / Síntesis**

**Palabras clave: metionina aminopeptidasa / antihelmínticos / síntesis orgánica /**

### **Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.**

#### Antecedentes

Uruguay, uno de los principales países ganaderos, tiene pérdidas estimadas en 42 MU\$ anuales a causa de las infecciones causadas por helmintos [1,2]. Esta es una problemática a nivel global que causa morbilidad y mortalidad, afectando principalmente a pequeños rumiantes como cabras y ovejas [1, 3–5]. A nivel productivo, se destaca el nemátodo *Haemonchus contortus* como uno de los principales responsables de esta enfermedad, con alto impacto para los pequeños productores [1, 3, 6, 7]. Si bien el control químico de helmintos ha sido preferido por costos, eficacia y sencillez, el uso extensivo e inadecuado de los fármacos comercializados ha dado lugar al desarrollo de resistencia a nivel mundial [8–10], destacándose géneros con alto potencial biótico como *H. contortus* [11]. Uruguay no escapa a esta realidad, observándose un alarmante aumento de la resistencia a antihelmínticos comerciales, incluso en los desarrollados más recientemente como el monepantel [12–14]. Este escenario pone de manifiesto una problemática central: la necesidad urgente de desarrollar nuevos agentes antihelmínticos con mecanismos de acción alternativos, capaces de sortear la resistencia adquirida [7].

El desarrollo de nuevos compuestos antihelmínticos ha estado tradicionalmente basado en screenings fisiología-guiados [15, 16], donde se cultivan *in vitro* distintos estadios del parásito en presencia del compuesto a evaluar, analizando parámetros fenotípicos como viabilidad o motilidad [16, 17]. Sin embargo,

estos ensayos presentan limitaciones importantes para evaluar grandes bibliotecas de compuestos, ya que emplean metodologías manuales y subjetivas, y no aportan información sobre el blanco molecular afectado [18–20]. En las últimas décadas se han desarrollado ensayos blanco-guiados utilizando blancos moleculares aislados [19], que permiten mayor automatización y evaluación masiva. No obstante, en helmintología esta estrategia resulta poco exitosa cuando se emplea de forma aislada, dado que la actividad observada sobre el blanco molecular puede perderse al evaluar el compuesto frente al helminto entero, debido a barreras parasitarias que impiden su acción. Por este motivo, la combinación de metodologías fisiología-guiadas y blanco-guiadas se presenta como una estrategia más adecuada para el descubrimiento de nuevos antihelmínticos.

La hibridación molecular es una estrategia de diseño de nuevos ligandos basada en la unión de dos o más estructuras bioactivas conocidas, manteniendo las unidades farmacofóricas de sus derivados constituyentes en el híbrido resultante [21]. Esta aproximación ha demostrado ser útil para corregir problemas de potencia o farmacocinética de los compuestos precursores. En este marco, y como resultado de un proyecto interdisciplinario previo, nuestro grupo desarrolló una serie de compuestos híbridos valerolactámicos-benzimidazólicos con destacada actividad antihelmíntica [22–27]. El compuesto líder de esta serie, denominado valero-fenbendazol (VAL-FBZ), surge de la combinación del benzimidazol antihelmíntico comercial fenbendazol (FBZ) con una valerolactama (VAL) desarrollada por el grupo [23, 26, 28]. Este compuesto mostró una elevada actividad *in vitro* en larvas parasitantes L4 de *Nippostrongylus brasiliensis* ( $EC_{50} = 3,87 \pm 0,37$  nM) y una alta tasa de difusión *ex vivo* en *Mesocestoides vogae* y en *Haemonchus contortus*. Estudios recientes indican que, si bien estos híbridos derivan parcialmente de benzimidazoles, su blanco de acción no coincide con el de sus precursores [29].

La fracción valerolactámica de estos híbridos es un análogo simplificado de las bengamidas, una familia de compuestos naturales bioactivos aislados de esponjas del género *Jaspis* [30], con actividad antitumoral y antiangiogénica [30–34]. Se ha demostrado que estas moléculas inhiben reversiblemente la enzima metionina aminopeptidasa (MetAp), mediante coordinación con los iones metálicos del sitio activo [34–39]. Las MetAp son enzimas responsables de la remoción del residuo de metionina inicial durante la síntesis proteica, un proceso esencial para las modificaciones postraduccionales [40]. En eucariotas existen al menos dos isoformas, MetAp-1 y MetAp-2, con baja homología de secuencia pero estructuras conservadas [40]. En nematodos como *Caenorhabditis elegans*, se ha demostrado que la inhibición o delección de MetAp-2 afecta el desarrollo de la línea germinal y la formación de gónadas [41]. Asimismo, se ha reportado que, si bien la MetAp-2 de *C. elegans* presenta homología con la humana en el sitio activo, existen diferencias en afinidad por inhibidores como TNP-470, lo que sugiere la posibilidad de lograr selectividad mediante modulación química [41]. Además de las bengamidas, se han reportado otros inhibidores de MetAp, como la bestatina [42–44], cuya estructura beta-aminoacídica es clave para la coordinación con la metaloenzima, así como compuestos con heterociclos aromáticos nitrogenados [36]. En particular, combinaciones de núcleos piridin-tiazólicos han mostrado elevada actividad inhibitoria al coordinar con los cofactores metálicos de la enzima [45, 46] y, por otro lado, ha sido reportada por el grupo la actividad antihelmíntica de la combinación con alfa aminoácidos y núcleos fenbendazólicos frente al parásito *H. contortus* [47].

### Problema de investigación

A pesar de los avances logrados por el grupo en el desarrollo de híbridos valerolactama-benzimidazol con actividad antihelmíntica, persiste la necesidad de ampliar la diversidad estructural de estos compuestos y profundizar en la comprensión de su mecanismo de acción, particularmente en relación con la inhibición de las MetAp. El problema central de investigación consiste en determinar si es posible diseñar nuevos híbridos químicos, mediante la modificación racional de los linkers entre fragmentos bioactivos, que presenten actividad antihelmíntica frente a *H. contortus* y cuyo mecanismo de acción esté asociado a la

inhibición de las MetAp, contribuyendo así a la identificación de nuevos candidatos con mecanismos de acción alternativos a los fármacos actualmente disponibles.

### Objetivos del proyecto

El objetivo general del proyecto consistió en obtener una serie de nuevas moléculas híbridas derivadas de bengamidas con potencial actividad antihelmíntica, explorando las metaloenzimas metionina aminopeptidasa (MetAp) como blanco farmacológico de interés. Para aumentar la variedad estructural de los nuevos compuestos se recurrió a técnicas de farmacomodulación que utilizaron fragmentos bioactivos, utilizando distintos linkers de unión con estructuras aminoacídicas, cadenas polihidroxiladas o heterociclos aromáticos. Además, se evaluó la actividad antihelmíntica de los compuestos obtenidos mediante modelos farmacológicos in vitro sobre *Haemonchus contortus*, así como su actividad inhibitoria sobre la enzima MetAp-2, con el fin de correlacionar la inhibición enzimática con la actividad antihelmíntica.

Este objetivo incluiría distintos objetivos específicos como la síntesis de una serie de nuevos híbridos con linkers alfa-hidroxi-beta-aminoacídicos sustituidos, la síntesis de una serie de nuevos híbridos con linkers polihidroxilados, la síntesis de una serie de nuevos híbridos con linkers derivados de núcleos piridín-tiazólicos, el screening de la actividad antihelmíntica de los nuevos compuestos utilizando bioensayos sobre xL3 y adultos de *H. contortus*, la evaluación de la actividad de los compuestos activos sobre la enzima MetAp-2, la evaluación de la toxicidad de los compuestos con mayor actividad antihelmíntica y finalmente la selección de los mejores candidatos para continuar con etapas posteriores de optimización.

### Justificación

Este proyecto se justifica por la necesidad urgente de desarrollar nuevos antihelmínticos frente al creciente problema de resistencia, particularmente en un país con fuerte dependencia del sector ganadero como Uruguay. La exploración de las MetAp como blanco farmacológico representa una estrategia innovadora y poco explotada en helmintología, con potencial para generar compuestos con mecanismos de acción diferentes a los actualmente disponibles. Asimismo, el proyecto se apoyó en una sólida trayectoria del equipo de trabajo en síntesis química, evaluación biológica, estudios de toxicidad y análisis de blancos moleculares. La generación de un nuevo pool de moléculas híbridas y la integración de metodologías fisiología-guiadas y blanco-guiadas aportan conocimiento fundamental y herramientas concretas para enfrentar la resistencia antihelmíntica y continuar el desarrollo de candidatos farmacológicos a futuro.

### Metodología/Diseño del estudio

La metodología del proyecto se estructuró en dos grandes componentes complementarios. Por un lado, el desarrollo sintético de nuevas moléculas híbridas mediante distintas estrategias de farmacomodulación química, y, por otro, la evaluación biológica de los compuestos obtenidos mediante una plataforma integrada de bioensayos fisiología-guiados y blanco-guiados.

#### Diseño general de las estrategias sintéticas

En relación a los objetivos sintéticos propuestos, se plantearon tres estrategias principales. Las metodologías sintéticas se describieron de forma genérica, lo que permitió la utilización de una gran variedad de alternativas de síntesis (empleo de distintos agentes acoplantes, oxidantes, grupos protectores, entre otros), con el objetivo de poder obtener las moléculas planteadas. Es conocido que el éxito en la aplicación de determinadas estrategias sintéticas puede ser altamente dependiente del sustrato, por lo cual este enfoque flexible permitió corregir posibles inconvenientes que pudieran surgir durante las distintas rutas sintéticas planteadas.

Estrategia de síntesis 1: síntesis de nuevos híbridos derivados de VAL-FBZ con linkers alfa-hidroxi-beta-

aminoacídicos sustituidos. Para esta serie de linkers se diseña una estrategia enantioselectiva. Para ello, se plantea utilizar como material de partida diferentes aldehídos que contengan grupos aromáticos, heterociclos, biciclos aromáticos y distintas cadenas alquílicas, con el fin de obtener una olefina. Obtenido la olefina intermediaria, se someterá a una epoxidación asimétrica de Sharpless como fuente de enantioselectividad, y luego se realizará la apertura correspondiente para obtener el aminoácido deseado. Una vez obtenidos estos linkers, se plantearon dos estrategias alternativas para el acople, de manera de obtener el linker unido a las dos unidades farmacofóricas de forma independiente.

Estrategia de síntesis 2: síntesis de nuevos híbridos derivados de VAL-FBZ con linkers polihidroxilados. Se utilizó una estrategia convergente a la empleada en la Estrategia 1 para la obtención de un epóxido, pero utilizando como material de partida derivados de manitol como precursor quiral.

Estrategia de síntesis 3: síntesis de nuevos híbridos con linkers derivados piridin-tiazólicos. Los linkers de esta estrategia pueden dividirse en dos grandes tipos, según la naturaleza del grupo enlazado al ácido 2-piridincarboxílico en posición 3 (grupo amino o hidroxilo).

Los restos valerolactámicos, caprolactámicos, aminobencimidazólicos y tiazólicos utilizados como fragmentos de síntesis fueron sintetizados mediante metodologías ya utilizadas, con las que el grupo de trabajo cuenta con amplia experiencia [22, 23, 25, 27].

Adicionalmente, se realizaron ensayos biológicos tanto sobre los compuestos híbridos finales como sobre compuestos intermedios, con el fin de obtener mayor información sobre los efectos de las distintas farmacomodulaciones en la actividad biológica.

#### Evaluación biológica de los compuestos

##### Ensayos de actividad antihelmíntica in vitro

La evaluación de la actividad antihelmíntica se realizó sobre el nematodo de interés productivo *Haemonchus contortus*. Se contó con ovinos infectados artificialmente con *H. contortus* cepa Kirby (protocolo de experimentación N° 101900-12500053-21), de los cuales se obtuvo el material parasitario.

##### Actividad sobre el estadio larvario L3 desenvainado (xL3)

Se dispone de una metodología validada y publicada para el desenvainado de larvas L3 (obtención de xL3) y su cultivo en presencia de los compuestos a ensayar. La motilidad larvaria se mide a las 24, 48 y 72 horas post incubación, durante 30 minutos a 22–24 °C, utilizando un equipo automatizado que detecta el movimiento de las xL3 (WMicrotracker ONE, PhylumTech) [48].

##### Ensayo sobre el estadio adulto de *H. contortus*

Los gusanos adultos se obtienen a partir de abomasos de ovinos infectados artificialmente con larvas L3 de *H. contortus* cepa Kirby. Los adultos se cultivan en presencia de los compuestos a evaluar y la motilidad se mide a las 72 horas post incubación [48].

##### Ensayos de actividad sobre MetAp-2

Los compuestos que resultaran activos frente a *H. contortus* serían evaluados por su capacidad inhibitoria sobre la metionina aminopeptidasa-2 recombinante humana comercial (n° de catálogo 3795-ZN-020, R&D Systems, MN, USA). Para ello se emplearía un ensayo enzimático acoplado para la detección de la hidrólisis del péptido Met-Ala-Ser [37].

#### Estudios de toxicidad de los compuestos bioactivos

La citotoxicidad de los compuestos bioactivos se evaluaría sobre células mamíferas modelo (macrófagos murinos J774), utilizando técnicas ya establecidas. Estos ensayos permitirían determinar el índice de selectividad (IS) de los compuestos, definido como la relación CC50 células modelo / IC50 parásito [49].

Los compuestos que resulten no tóxicos para células mamíferas podrían ser evaluados adicionalmente mediante el ensayo de toxicidad oral aguda OECD 425 en ratas [50].

## Resultados, análisis y discusión

En esta investigación se desarrollaron híbridos moleculares inéditos con el objetivo de mejorar tratamientos contra parásitos intestinales, combinando fragmentos de compuestos con actividad biológica previamente reportada. La estrategia general consistió en el diseño racional de moléculas que integran distintos motivos químicos, con énfasis en la optimización de propiedades fisicoquímicas relevantes como solubilidad, biodisponibilidad y perfil de toxicidad. Se sintetizaron seis compuestos híbridos a partir del fármaco comercial Febendazol y de una valerolactama, análogo simplificado de las bengamidas con potencial antiparasitario. La síntesis se organizó en dos grandes líneas estructurales: una basada en la incorporación de heterociclos del tipo piridina y tiazol, y otra orientada a la inclusión de fragmentos relacionados con aminoácidos, con el objetivo de favorecer interacciones específicas con blancos biológicos y ampliar el espacio químico explorado.

Desde el punto de vista sintético, los resultados obtenidos permitieron validar parcialmente las estrategias planteadas, al tiempo que pusieron de manifiesto limitaciones inherentes a la complejidad estructural de los híbridos propuestos. En particular, el desarrollo de linkers alfa-hidroxi-beta-aminoácidos presentó desafíos asociados a los rendimientos globales de las rutas sintéticas y a la estabilidad de ciertos intermediarios clave. Durante el período evaluado se logró desarrollar una metodología que permitió acceder a distintos intermediarios a partir de un alcohol precursor, explorando alternativas que incluyeron aperturas de epóxidos, reducciones, oxidaciones y modificaciones sobre el grupo carboxílico. Si bien algunas rutas condujeron a rendimientos modestos, estas aproximaciones permitieron identificar condiciones más favorables para etapas críticas de acople. En este sentido, el cambio de estrategia hacia el acople inicial con la unidad valerolactámica permitió obtener uno de los híbridos objetivo con resultados satisfactorios. Sin embargo, en etapas posteriores se observaron problemas de descomposición durante procesos de hidrólisis y acople, particularmente asociados a la labilidad de ciertos grupos protectores y a la necesidad de ajustes finos del pH. Estos resultados evidencian la alta sensibilidad de los sistemas híbridos desarrollados y resaltan la necesidad de continuar optimizando las condiciones de reacción para lograr un acceso más robusto a los compuestos finales.

En paralelo, se avanzó en la obtención de nuevos precursores sintéticos, ampliando la diversidad estructural mediante la introducción de sustituyentes aromáticos y alifáticos, así como en la síntesis de enantiómeros utilizando epoxidación asimétrica como estrategia para la incorporación controlada de quiralidad. Estos avances constituyen una base relevante para futuras exploraciones de relación estructura-actividad. En cuanto a la serie de híbridos con linkers derivados de núcleos piridín-tiazólicos, los resultados mostraron que las reacciones de acople entre los bloques sintéticos constituyen pasos críticos. Fue necesario realizar un trabajo sistemático de optimización de condiciones, evaluando distintos agentes acoplantes y bases, hasta identificar alternativas que permitieran alcanzar rendimientos aceptables para el núcleo piridín-tiazólico. En este contexto, se observó que algunos agentes acoplantes empleados tradicionalmente por el grupo resultaron más eficaces que alternativas más recientes, posiblemente debido a factores electrónicos y estéricos de los sustratos involucrados. A pesar de estos avances, las etapas posteriores de acople con la unidad febendazólica presentaron dificultades adicionales, observándose fenómenos de descomposición bajo condiciones de hidrólisis básica o durante reacciones de amidación. Asimismo, se exploraron rutas alternativas que buscaban prescindir del núcleo tiazólico, con el fin de evaluar la influencia de este fragmento sobre la estabilidad y el potencial biológico de los compuestos.

En conjunto, los resultados sintéticos obtenidos durante el período permitieron identificar aspectos críticos de las estrategias propuestas y generaron información clave para rediseñar rutas y priorizar estructuras con mayor probabilidad de éxito en etapas futuras. Desde el punto de vista biológico, los compuestos sintetizados y algunos de sus precursores fueron evaluados frente al nemátodo *Haemonchus contortus*, de alta relevancia para la producción ovina en Uruguay. Se realizó un primer screening de actividad sobre el estadio adulto del parásito, utilizando condiciones experimentales estandarizadas. Los resultados obtenidos indican que ninguno de los compuestos evaluados mostró una actividad antiparasitaria destacable bajo las condiciones ensayadas. En particular, los precursores sintetizados no presentaron reducción significativa de la motilidad del parásito. En el caso de los derivados piridin-tiazólicos, debe considerarse que aún resta completar el acople con la unidad benzimidazólica, lo cual podría ser determinante para la actividad biológica. De manera similar, en la serie de derivados beta-aminoácidos, la limitada variedad estructural alcanzada hasta el momento restringe el análisis exhaustivo de la relación estructura–actividad. Si bien la ausencia de compuestos activos puede considerarse una limitación desde una perspectiva aplicada, estos resultados aportan información valiosa desde el punto de vista del análisis racional del diseño molecular. En particular, permiten descartar ciertas combinaciones estructurales, identificar motivos químicos que no favorecen la actividad y orientar el rediseño de nuevas variantes con mayor potencial. Además, el trabajo realizado permitió establecer protocolos de síntesis reproducibles y rutas de purificación optimizadas, lo que fortalece significativamente la plataforma experimental del grupo. Este aspecto es especialmente relevante para proyectos de investigación fundamental, donde la generación de conocimiento metodológico constituye un resultado en sí mismo.

En conjunto, los resultados obtenidos durante este período confirman la viabilidad del enfoque de híbridos químicos como estrategia de diseño racional, al tiempo que ponen de manifiesto la complejidad del desarrollo de nuevos antiparasitarios. La información generada sienta las bases para la optimización futura de las estructuras evaluadas y para la expansión del proyecto hacia derivados más complejos o combinaciones con otros fragmentos bioactivos.

## Impactos

Esta investigación tiene el potencial de generar impactos significativos en los ámbitos científico, farmacológico y productivo. Desde el punto de vista científico, contribuye al desarrollo de nuevas metodologías en química medicinal mediante un enfoque de diseño molecular “pieza por pieza”, que permite combinar fragmentos estructurales con propiedades biológicas conocidas para optimizar solubilidad, estabilidad, absorción y perfil de toxicidad. Asimismo, amplía el conocimiento sobre la síntesis y funcionalización de estructuras híbridas derivadas de piridina, tiazol y valerolactamas, y aporta datos experimentales sobre distintos métodos de acoplamiento, útiles para futuras investigaciones. En el ámbito farmacológico, el proyecto se centra en el desarrollo de derivados del antiparasitario comercial Febendazol orientados al tratamiento de *Haemonchus contortus*, nemátodo gastrointestinal que afecta gravemente a la producción ovina en Uruguay y otros países. Aunque hasta el momento no se han identificado compuestos con actividad destacada, los resultados proporcionan una base sólida para optimizar estructuras y ensayos en etapas futuras. A nivel agropecuario, la investigación aborda la necesidad crítica de nuevas alternativas terapéuticas frente a la creciente resistencia a antihelmínticos, contribuyendo a mejorar la salud animal y la sostenibilidad de la producción ovina. Además, el proyecto impacta en la formación de recursos humanos calificados en síntesis orgánica, química medicinal y parasitología, promoviendo el trabajo interdisciplinario y abriendo oportunidades para la transferencia tecnológica y la colaboración con el sector académico y productivo.

## Conclusiones y recomendaciones

El proyecto desarrollado tuvo como eje central la exploración de nuevas estrategias de diseño racional de compuestos híbridos con potencial actividad antihelmíntica, orientadas al control de *Haemonchus contortus*, un nemátodo de alta relevancia para la producción ovina en Uruguay. A partir de la combinación de fragmentos estructurales con actividad biológica previamente reportada, se planteó la obtención de nuevas moléculas capaces de superar, al menos parcialmente, las limitaciones asociadas a los antiparasitarios actualmente disponibles, en particular el creciente problema de la resistencia.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el enfoque de hibridación molecular empleado es viable desde el punto de vista conceptual y metodológico, aunque su implementación práctica presenta desafíos significativos que deben ser abordados en etapas posteriores. En el período evaluado se logró sintetizar un conjunto acotado de compuestos híbridos inéditos, así como una serie de intermediarios clave, utilizando diferentes estrategias de farmacomodulación química. Estas aproximaciones permitieron ampliar el espacio químico explorado y generar información relevante sobre la influencia de distintos linkers y fragmentos estructurales en la factibilidad sintética y el comportamiento de las moléculas resultantes.

Desde el punto de vista sintético, el trabajo realizado permitió identificar tanto rutas exitosas como limitaciones importantes. En particular, las estrategias basadas en linkers alfa-hidroxi-beta-aminoacídicos evidenciaron dificultades asociadas a rendimientos globales bajos, problemas de estabilidad de intermediarios y sensibilidad a condiciones de hidrólisis y acople. No obstante, estos resultados negativos parciales constituyen un aprendizaje relevante, ya que permitieron detectar etapas críticas de las rutas sintéticas, reconocer la influencia de grupos protectores lábiles y orientar la búsqueda de condiciones alternativas más adecuadas. De manera complementaria, el desarrollo de híbridos con linkers derivados de núcleos piridín-tiazólicos permitió avanzar en la optimización de reacciones de acople complejas, identificando condiciones más favorables para la formación de estos sistemas heterocíclicos. Sin embargo, las dificultades encontradas en las etapas posteriores de funcionalización y acople con la unidad febendazólica indican que estas estructuras requieren un rediseño adicional para mejorar su accesibilidad sintética y estabilidad química. En conjunto, puede concluirse que el principal aporte del proyecto en esta etapa reside en la generación de conocimiento metodológico y estructural, más que en la identificación de compuestos líderes con actividad biológica destacada. La puesta a punto de protocolos de síntesis reproducibles, la optimización de rutas de purificación y la obtención de nuevos precursores constituyen una base sólida para la continuación del proyecto y para futuras investigaciones en el área.

En cuanto a la evaluación biológica, los ensayos realizados frente a *Haemonchus contortus* permitieron obtener información preliminar sobre la actividad de los compuestos sintetizados. Si bien ninguno de los híbridos ni precursores evaluados mostró actividad antiparasitaria significativa en los ensayos realizados, estos resultados son coherentes con el carácter exploratorio de la investigación y con la limitada diversidad estructural alcanzada en esta etapa. La ausencia de actividad destacable no invalida la estrategia propuesta, sino que subraya la complejidad del diseño de nuevos antiparasitarios y la necesidad de continuar ampliando y ajustando las bibliotecas de compuestos. Asimismo, los resultados biológicos obtenidos permiten descartar determinadas combinaciones estructurales y priorizar otras para futuras etapas de optimización. En particular, se identificó la necesidad de completar la síntesis de ciertos híbridos (por ejemplo, aquellos derivados piridín-tiazólicos aún no acoplados a la unidad benzimidazólica) y de ampliar la variedad estructural de los derivados beta-aminoacídicos, con el fin de realizar un análisis más profundo de la relación estructura-actividad.

Desde una perspectiva global, el proyecto demuestra que la investigación fundamental en el área de nuevos antihelmínticos es un proceso incremental, en el que resultados parciales, limitaciones experimentales y ajustes metodológicos forman parte esencial del avance científico. En este sentido, el trabajo realizado fortalece la plataforma experimental del grupo y consolida un marco de trabajo interdisciplinario que integra síntesis orgánica, química medicinal y parasitología.

## Recomendaciones

A partir de las conclusiones alcanzadas, el proyecto continuará profundizando en las siguientes líneas de acción:

- Optimizar las rutas sintéticas identificadas como críticas, explorando alternativas en la elección de agentes acoplantes, grupos protectores y condiciones de reacción, con el objetivo de mejorar rendimientos y estabilidad de los compuestos híbridos.
- Ampliar la diversidad estructural de las bibliotecas de compuestos, priorizando aquellas modificaciones que permitan evaluar de forma más sistemática la relación estructura–actividad, en particular en las series de derivados beta-aminoácidos y piridin-tiazólicos.
- Completar la síntesis de los híbridos propuestos que no pudieron ser evaluados biológicamente en esta etapa, dado que la ausencia de ciertos fragmentos clave puede haber limitado su potencial actividad antiparasitaria.
- Profundizar la integración entre los ensayos sintéticos y biológicos, incorporando de manera temprana la evaluación de intermediarios y variantes estructurales, con el fin de retroalimentar el diseño molecular de forma más eficiente.
- Mantener y fortalecer la plataforma de bioensayos instalada, ya que constituye una herramienta estratégica para la evaluación comparativa de nuevos compuestos y para futuras colaboraciones interdisciplinarias.

Finalmente, se recomienda considerar estos resultados como una base sólida para la formulación de nuevas hipótesis y proyectos orientados a la optimización de compuestos con potencial aplicación en el control de helmintos en el sector agropecuario. El conocimiento generado en esta etapa contribuye de manera significativa al entendimiento del comportamiento de híbridos químicos complejos y refuerza la capacidad del grupo para abordar, a mediano y largo plazo, el desafío de la resistencia antihelmíntica.

## Productos derivados del proyecto

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
Póster	Development of new anthelmintics using pharmacomodulation techniques based on active fragments	Maximiliano Colobbio, Juan Carlos Ramos, Eduardo Manta			En proceso
Póster	Recientes avances en el desarrollo de potenciales compuestos antihelmínticos	Maximiliano Colobbio, Elisa Melián, Magdalena Nieves, Jenny Saldaña, Beatriz Munguía, Mauricio Silvera, Juan C. Ramos y Eduardo Manta			En proceso
Póster	Diseño de nuevos antihelmínticos: análisis in silico y relación estructura-actividad en Haemonchus contortus	Colobbio, Maximiliano; Teixeira, Ramiro; Duarte, Gerardo; Nieves, Magdalena; Melian, Elisa; Munguía, Beatríz; Ramos, Juan Carlos; Manta, Eduardo			En proceso
Póster	Helminthiasis: 30 años	Maximiliano			En proceso

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
	de investigación interdisciplinaria, adaptaciones de fragmentos basado en 2-amino-valerolactamas y reutilización de benzimidazoles hacia novedosos mecanismos de acción	Colobbio; Ramiro Texeira; Gerardo Duarte; Magdalena Nieves; Mauricio Silvera; María Elisa Melian; Beatriz Munguía; Juan Carlos Ramos; Eduardo Manta			
Póster	ANTIHELMÍNTICOS BENZIMIDAZÓLICOS: INNOVACIÓN ESTRATEGICA SOBRE FRAGMENTOS CONOCIDOS	Maximiliano Colobbio, Magdalena Nieves, Ramiro Teixeira, Gerardo Duarte, Elisa Melián, Mauricio Silvera, Beatriz Munguía, Juan C. Ramos y Eduardo Manta			En proceso

### Referencias bibliográficas

- [1] Waller, P.; Chandrawathani, P. Tropical Biomedicine 2005, 22, 131.  
[2] Castro, G. A. Helminths: Structure, Classification, Growth, and Development; 2011.  
[3] Dyary, H. O. J. Zankoy Sulaimani Part A 2016, 18, 191  
[4] Kaplan, R. M.; Vidyashankar, A. N. Veterinary Parasitology 2012, 186, 70.

- [5] Manke, M. B.; Dhawale, S. C.; Jamkhande, P. G. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2015, 5, 175
- [6] Roeber, F.; Jex, A. R.; Gasser, R. B. *Advances in Parasitology* 2013, 83, 267.
- [7] Besier, B. *Trends in Parasitology* 2007, 23, 21.
- [8] Kaplan, R. M. *Trends in Parasitology* 2004, 20, 477.
- [9] Jabbar, A.; Iqbal, Z.; Kerboeuf, D.; Muhammad, G.; Khan, M. N.; Afaq, M. *Life Sciences* 2006, 79, 2413.
- [10] Scott, I.; Pomroy, W. E.; Kenyon, P. R.; Smith, G.; Adlington, B.; Moss, A. *Veterinary Parasitology* 2013, 198, 166.
- [11] Torres-Acosta, J.; Aguilar-Caballero, A.; Cuéllar-Ordaz, J. *Veterinary Parasitology* 2012, 189, 89.
- [12] Mederos, A.; Carracelas, B.; Pimentel, S.; Banchemo, G. *Revista INIA Uruguay* 2016, 44, 10.
- [13] Mederos, A. E.; Ramos, Z.; Banchemo, G. E. *Parasites & Vectors* 2014, 7, 1.
- [14] Kaminsky, R.; Gauvry, N.; Schorderet Weber, S.; Skripsky, T.; Bouvier, J.; Wenger, A.; Desales, Y.; Hotz, R.; Goebel, T. *Parasitology Research* 2008, 103, 931.
- [15] Le Jambre, L. *Veterinary Parasitology* 1976, 2, 385.
- [16] Kotze, A.; Le Jambre, L.; O'Grady, J. *Veterinary Parasitology* 2006, 137, 294.
- [17] Kotze, A.; Coleman, G.; Mai, A. *International Journal for Parasitology* 2005, 35, 445.
- [18] Demeler, J.; Küttler, U.; Stafford, K.; Rydzik, A.; Varady, M.; Kenyon, F.; Coles, G.; Jackson, F. *Veterinary Parasitology* 2010, 174, 58.
- [19] Geary, T. G.; Thompson, D. P.; Klein, R. D. *International Journal for Parasitology* 1999, 29, 105.
- [20] Buckingham, S. D.; Partridge, F. A.; Sattelle, D. B. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 2014, 4, 226.
- [21] Meunier, B. *Accounts of Chemical Research* 2008, 41, 69.
- [22] Munguía, B.; Mendina, P.; Espinosa, R.; Lanz, A.; Saldaña, J.; Andina, M. J.; Ures, X.; López, A.; Manta, E.; Domínguez, L. *Letters in Drug Design & Discovery* 2013, 10, 1007.
- [23] Mendina, P.; Munguía, B.; Espinosa, R.; Saldaña, J.; Domínguez, L.; Manta, E. *Patente Uruguay DNPI N° 14424*, 2014.
- [24] Melian, M. E.; Paredes, A.; Munguía, B.; Colobbio, M.; Ramos, J. C.; Teixeira, R.; Manta, E.; Palma, S.; Faccio, R.; Domínguez, L. *AAPS PharmSciTech* 2020, 21, 1.
- [25] Colobbio, M.; Duarte, G.; Melian, M. E.; Silvera, M.; Teixeira, R.; Domínguez, L.; Ramos, C. J.; Manta, E. *Letters in Drug Design & Discovery* 2022, 19, 1.
- [26] Munguía, B.; Michelena, M.; Melian, E.; Saldaña, J.; Ures, X.; Manta, E.; Domínguez, L. *Experimental Parasitology* 2015, 153, 75.
- [27] Gordon, S.; Costa, L.; Incerti, M.; Manta, E.; Saldaña, J.; Domínguez, L.; Mariezcurrena, R.; Suescun, L. *Il Farmaco* 1997, 52, 603.
- [28] Munguía, B.; Mendina, P.; Espinosa, R.; Saldaña, J.; Andina, M. J.; Ures, X.; López, A.; Manta, E.; Domínguez, L. *Letters in Drug Design & Discovery* 2013, 10, 1007.
- [29] Teixeira, R. *Tesis de Maestría, Universidad de la República (Udelar)*, 2021.
- [30] White, K. N.; Tenney, K.; Crews, P. *Journal of Natural Products* 2017, 80, 740.
- [31] Crews, P.; Hunter, L. M. *En Pharmaceutical and Bioactive Natural Products*; Springer, 1993; p. 343.
- [32] Quinoa, E.; Adamczeski, M.; Crews, P.; Bakus, G. J. *The Journal of Organic Chemistry* 1986, 51, 4494.
- [33] García-Ruiz, C.; Sarabia, F. *Marine Drugs* 2014, 12, 1580.
- [34] Towbin, H.; Bair, K. W.; DeCaprio, J. A.; Kinder, F. R.; Morollo, A.; Mueller, D. R.; Schindler, P.; Song, H. K. *Journal of Biological Chemistry* 2003, 278, 52964.
- [35] Phillips, P.; Bair, K.; Bontempo, J.; Crews, P.; Czuchta, M.; Kinder, F.; Versace, R.; Wang, J.; Wood, A. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 2000, 41, 59.
- [36] Heinrich, T.; Buchstaller, H.-P.; Cezanne, B.; Rohdich, F.; Bomke, J.; Friese-Hamim, M.; Krier, M.; Knöchel, T.; Musil, D.; Leuthner, B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2017, 27, 551.
- [37] Heinrich, T.; Seenisamy, J.; Calderini, M.; Eckert, U.; Friese-Hamim, M.; Kohl, R.; Lehmann, M.; Leuthner,

- B. *Journal of Medicinal Chemistry* 2019, 62, 5025.
- [38] Xu, W.; Lu, J.-P.; Ye, Q.-Z. *Journal of Medicinal Chemistry* 2012, 55, 8021.
- [39] Dumez, H.; Gall, H.; van Oosterom, A. T.; Giaccone, G. *Anti-Cancer Drugs* 2007, 18, 219.
- [40] Lowther, W. T.; Matthews, B. W. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000, 1477, 157.
- [41] Boxem, M.; Tsai, C.; Zhang, Y.; Saito, R.; Liu, J. *FEBS Letters* 2004, 576, 245.
- [42] Suda, H.; Takita, T.; Aoyagi, T.; Umezawa, H. *The Journal of Antibiotics* 1976, 29, 100.
- [43] Luan, Y.; Mu, J.; Xu, W. *Mini-Reviews in Organic Chemistry* 2008, 5, 134.
- [44] Chen, L.; Teng, Y.; Xu, W. *Current Medicinal Chemistry* 2011, 18, 964.
- [45] Luo, Q.-L.; Li, J.-Y.; Liu, Z.-Y.; Chen, L.-L.; Li, J.; Qian, Z.; Shen, Q.; Li, Y.; Lushington, G. H.; Ye, Q. *Journal of Medicinal Chemistry* 2003, 46, 2631.
- [46] Luo, Q.-L.; Li, J.-Y.; Chen, L.-L.; Li, J.; Ye, Q.-Z.; Nan, F.-J. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2005, 15, 635.
- [47] Colobbio, M.; Teixeira, R.; Duarte, G.; Silvera, M.; Saldaña, J. C.; Nieves, M.; Medeiros, A.; Comini, M. A.; Domínguez, L.; Melian, M. E.; Munguía, B.; Ramos, J. C.; Manta, E. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2026, 301, 118247.
- [48] Munguía, B.; Saldaña, J.; Melian, M. E.; Ferrer, M.; Teixeira, R.; Porcal, W.; Manta, E.; Domínguez, L. *Parasites & Vectors* 2022, 15, 129.
- [49] Demoro, B.; Sarniguet, C.; Rossi, M.; Liebowitz, D.; Caruso, F.; Olea-Azar, C.; Moreno, V.; Medeiros, A.; Comini, M. A. *Dalton Transactions* 2012, 41, 1534.
- [50] OECD. Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure; 2008.

#### **Licenciamiento**

Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional. (CC BY-NC-SA)