

Galván J.E.¹, Cobos Picot R.¹, Molina R. D. I.², Arena M.E.², Tuttolomondo, M. E.¹ Ben Altabef, A.¹ y Díaz, S.¹

¹ INQUINOA-CONICET, Fac. de Bioqca., Qca. y Farmacia, UNT, R. Argentina.

² NBIOFAL-CONICET (Instituto de Biotecnología Farmacéutica y Alimentaria) Universidad Nacional de Tucumán, R. Argentina.

jorgegalvanqca@gmail.com

Introducción:

Los usos erróneo y excesivo de antibióticos y desinfectantes provocan el desarrollo de bacterias resistentes a los tratamientos clínicos y de desinfección. Se sabe que la formación de biofilm o película biológica, por parte de las bacterias las protege de la acción de antibióticos y se necesitan dosis hasta 100 veces superiores que las usadas con bacterias de vida libre para que sean efectivos. Tradicionalmente se consideró que los lípidos desempeñan un papel bastante inespecífico en los sistemas biológicos, siendo muy simples en comparación con los asignados a proteínas y genes. El Metansulfonato de Trifluoroetil (metilsulfonilo), TFMSMS (**Figura 1**), es un compuesto derivado del Clomesone¹ y ambos compuestos tienen interés biológico debido a que son agentes alquilantes que pueden reaccionar con los centros nucleofílicos de macromoléculas biológicas, específicamente actúan en las moléculas de ADN donde pueden fijarse ya sea en los heterociclos o en los grupos fosfato.

Potencial Electroestático

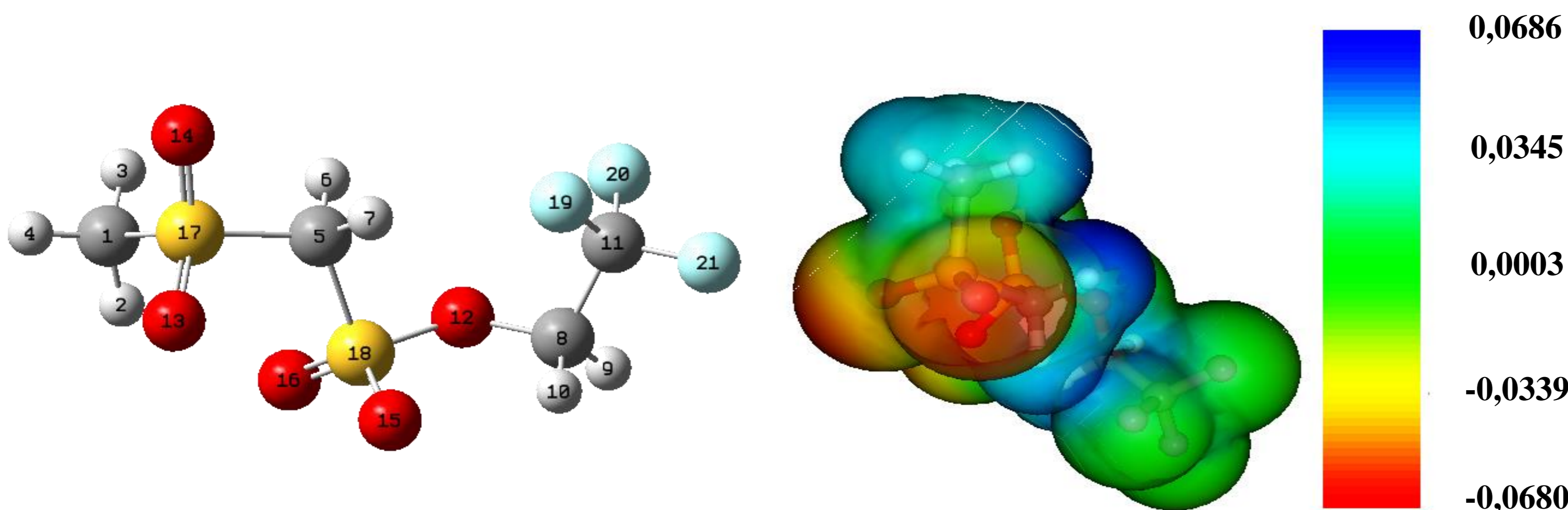


Figura 1. Molécula de TFMSMS con la numeración atómica.

Figura 2. Mapa de potencial electrostático 3D (PEM) calculados para el compuesto en u.a.

Resultados:

Se analizó la estabilidad de las bicapas de fosfolípidos inducidas por el TFMSMS y se caracterizó el papel de éste en la modificación de la topología e hidratación de la membrana lipídica². Las interacciones se estudiaron con vesículas multilamelares de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), haciendo un barrido de temperaturas entre 30 °C y 50 °C pasando del estado gel al líquido cristalino. Se realizaron estudios experimentales mediante espectroscopias de infrarrojo por Transformadas de Fourier (FTIR) y DSC. Asimismo se probó la capacidad del TFMSMS de inhibir el crecimiento de tres bacterias: *Pseudomonas aeruginosa* PA14, *P. aeruginosa* PAO1 y *Staphylococcus aureus* 6538. En la **Figura 2** se observa los sitios nucleofílicos posibles para los cuales los cálculos han proporcionado el orden de preferencia de los ataques electrofílicos. Las regiones negativas se asocian a SO₂ y C-O-S cuyo valor es de -0,0680 u.a. De esa manera se puede deducir que una especie electrofílica atacará principalmente al TFMSMS en las posiciones del SO₂ y C-O-S y los oxígenos de estos grupos serán los sitios favorecidos para la protonación.

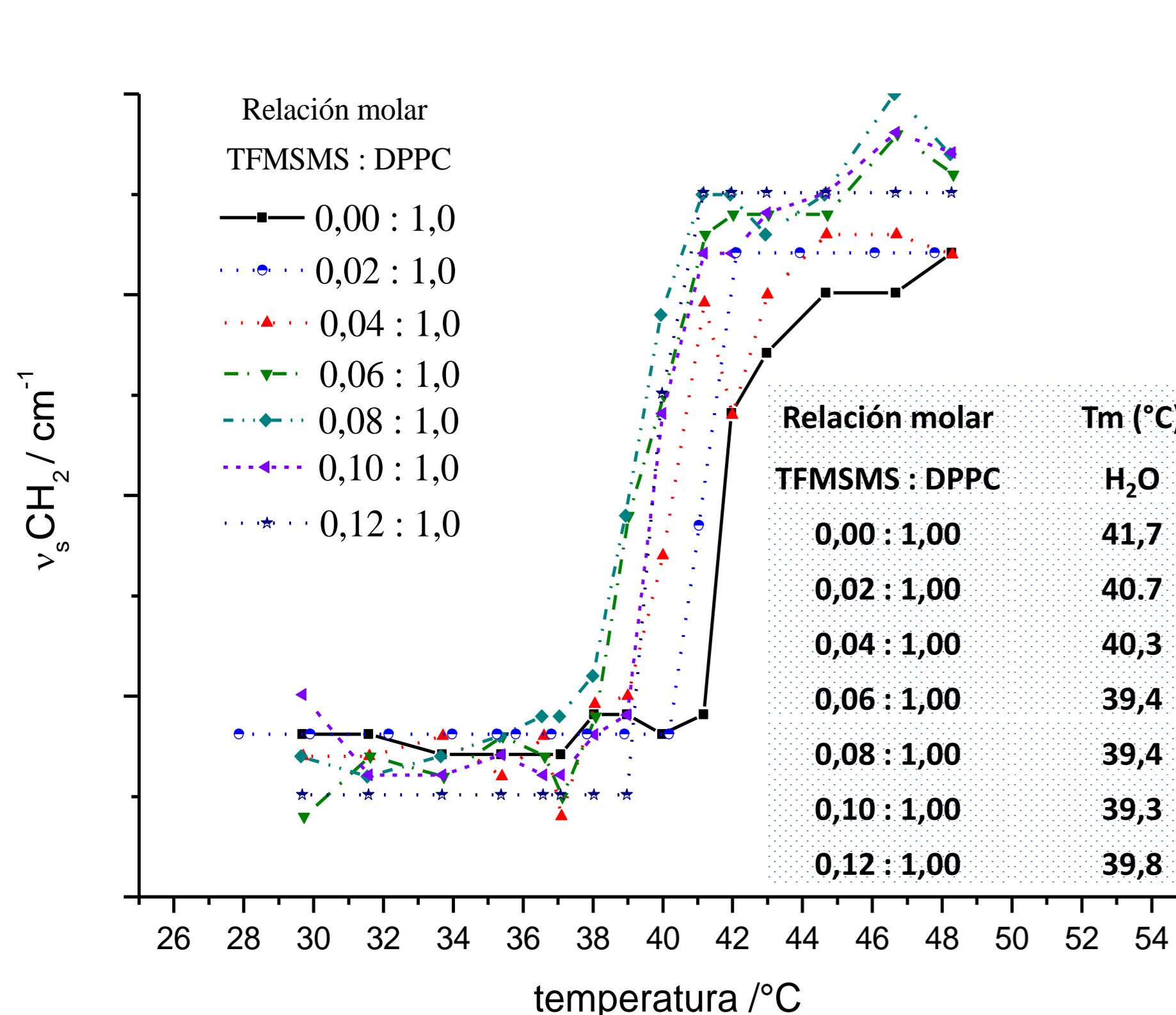


Figura 3. Cambios de las temperaturas de transición de fase (T_m) para el complejo TFMSMS: DPPC a diferentes relaciones molares.

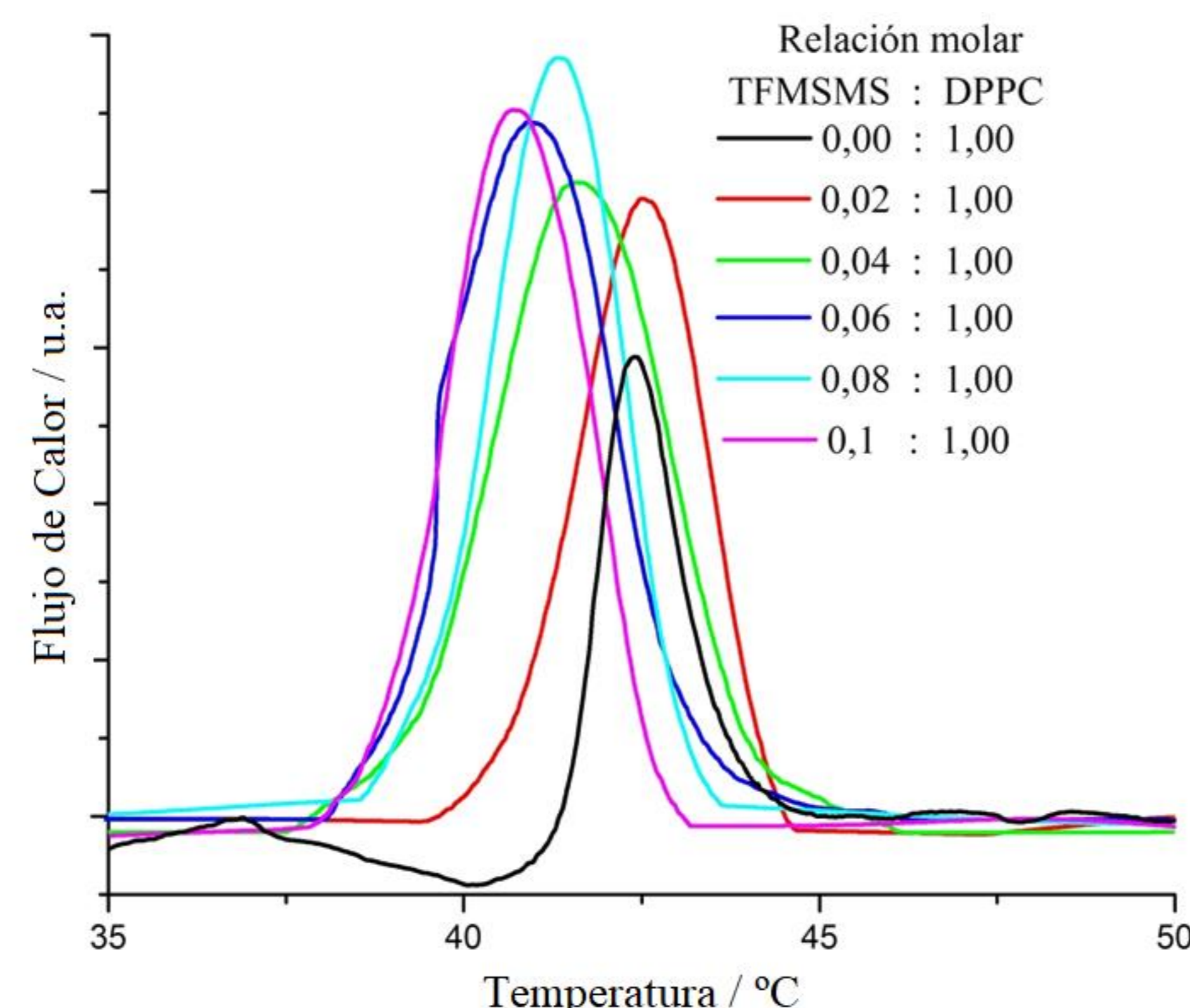


Figura 4. Cambios de las temperaturas de transición de fase (T_m) para el complejo TFMSMS: DPPC a diferentes relaciones molares por DSC

Tabla: Parámetros calorimétricos analizados para diferentes muestras estudiadas: T_m: temperatura de transición; ΔH_{cal}: entalpía de transición; ΔT_{1/2}: ancho medio de la altura media de la banda de transición; ΔS: entropía de transición; C.U.: unidades cooperativas.

Molar ratio TFMSMS:DPPC	T _m °C	ΔH _{cal} J.g ⁻¹	ΔT _{1/2} °C	ΔS J.g ⁻¹ .k ⁻¹	ΔH _{vH} J.g ⁻¹	CU
0.00:1.0	41,6	4431	1,4	4,99	42052,8	94,9
0.02:1.0	40,9	6454	3,5	20,5	15884,6	24,6
0.04:1.0	40,0	5587	3,1	17,8	17501,8	31,3
0.06:1.0	39,9	5462	2,7	17,5	19527,5	35,7
0.08:1.0	40,3	7268	2,2	23,2	24197,6	33,3
0.10:1.0	39,7	6702	2,2	21,4	23791,7	35,5

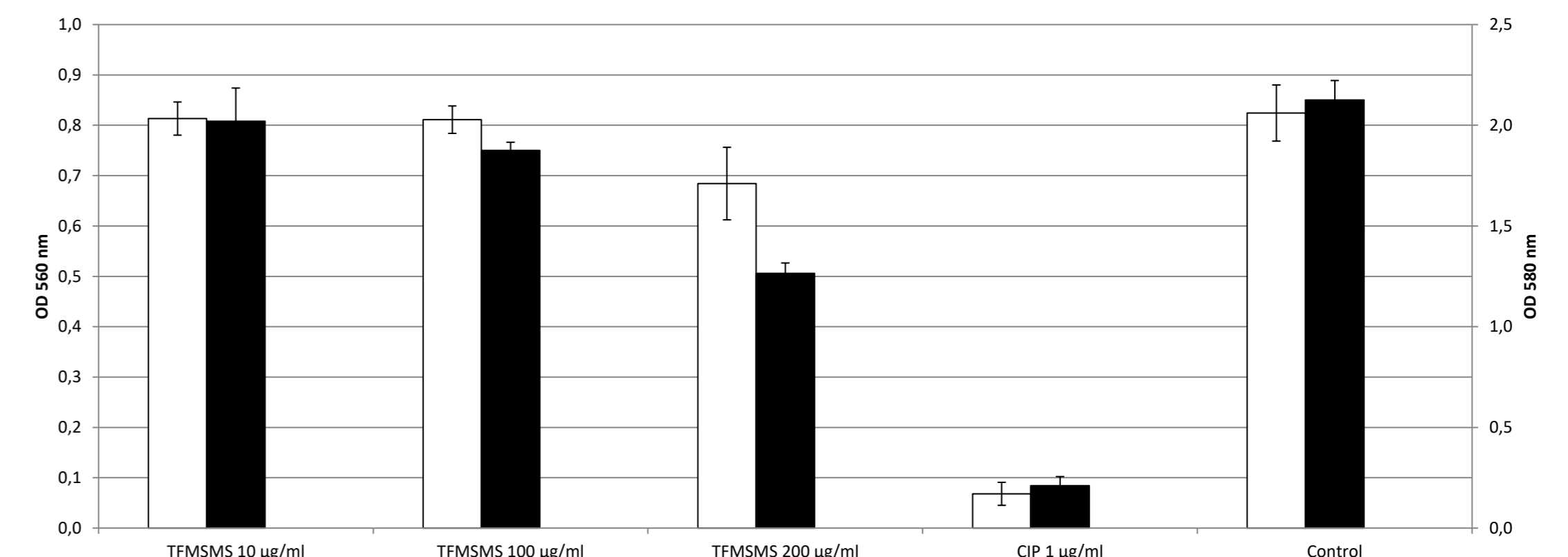


Figura 5. Crecimiento (□) y formación de biofilm (■) por *P. aeruginosa* PAO1 Cultivo producido en caldo LB en presencia y ausencia de 10, 100 and 200 µg/ml de TFMSMS. El inhibidor de control usado fue CIP (Ciprofloxacina) 1 µg/ml. Las barras de error indican la desviación standard (n=5)

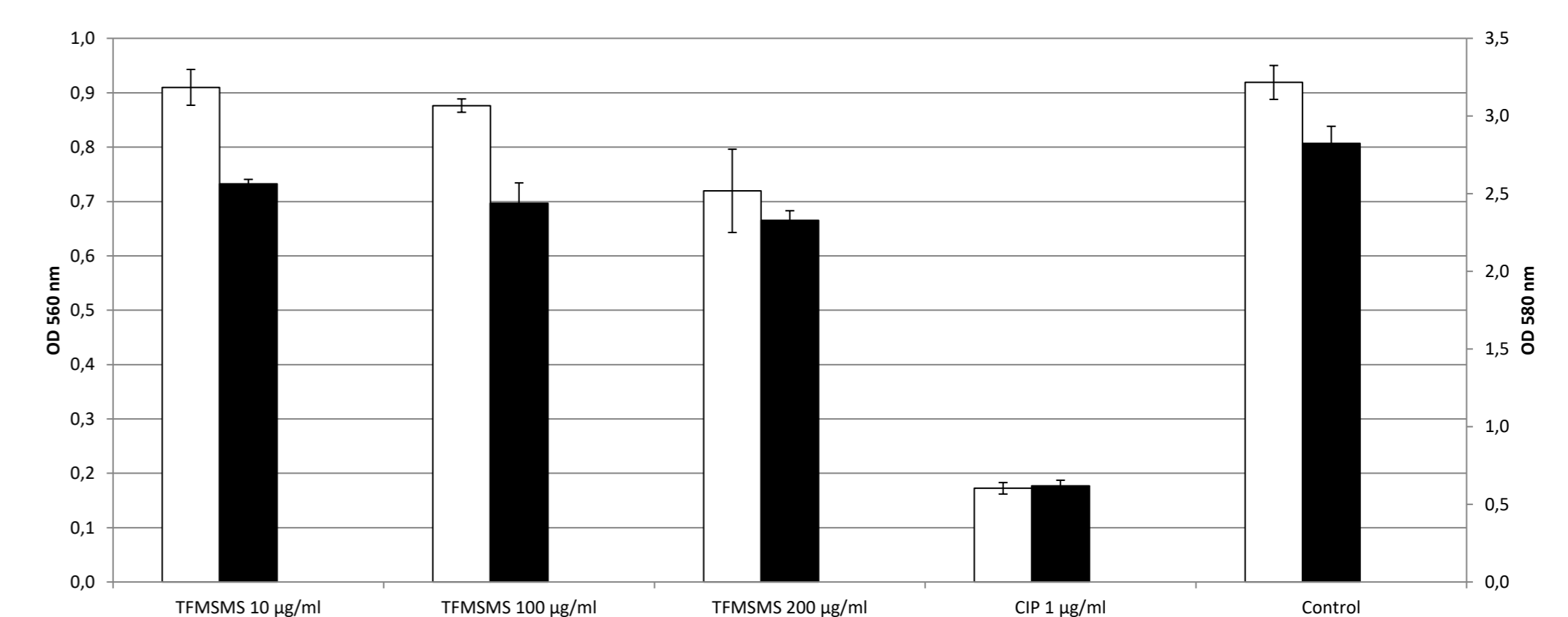


Figura 6. Crecimiento (□) y formación de biofilm (■) por *P. aeruginosa* PA14 Cultivo producido en caldo LB en presencia y ausencia de 10, 100 and 200 µg/ml de TFMSMS. El inhibidor de control usado fue CIP (Ciprofloxacina) 1 µg/ml. Las barras de error indican las desviaciones standard (n=5)

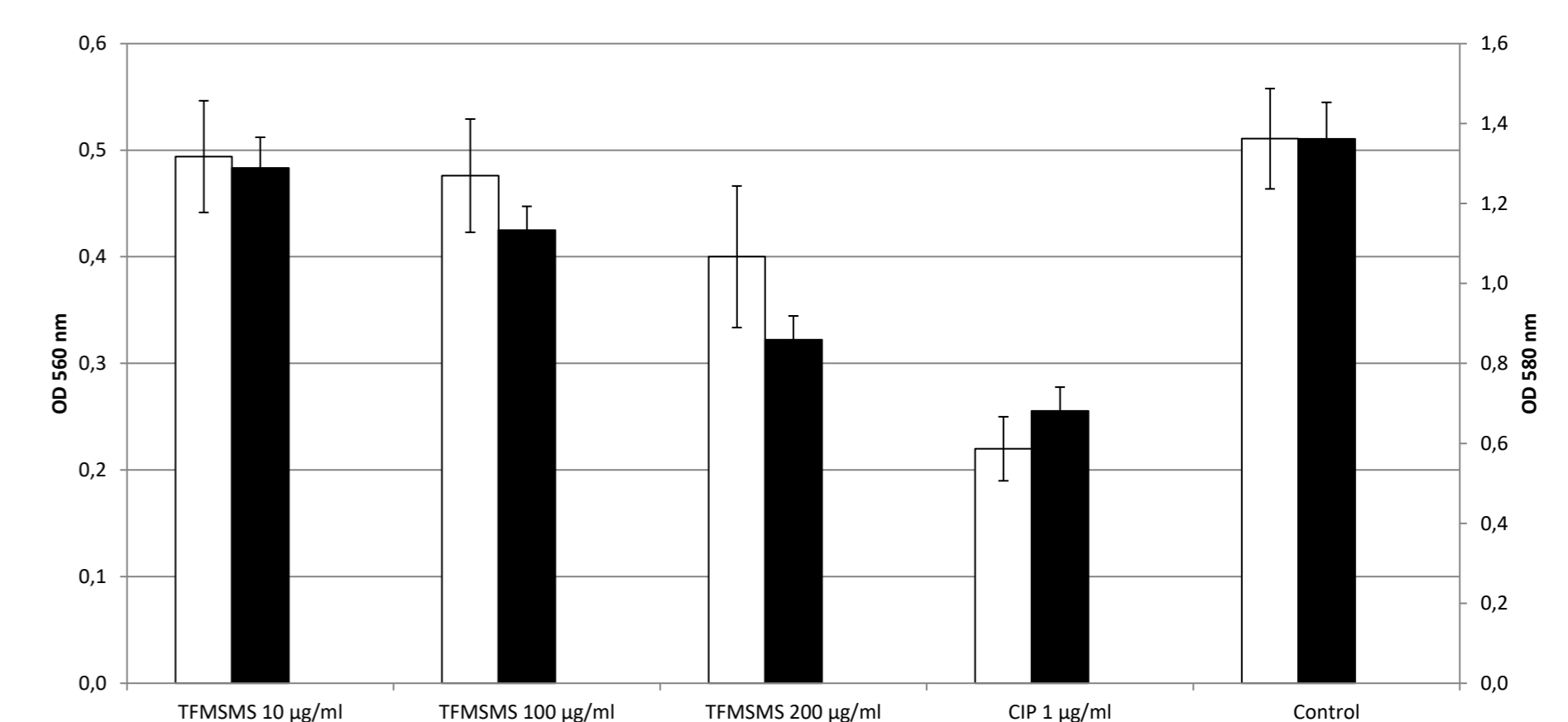


Figura 7. Crecimiento (□) y formación de biofilm (■) por *S. aureus* ATCC 6538 Cultivo producido en caldo LB en presencia y ausencia de 10, 100 and 200 µg/ml de TFMSMS. El inhibidor de control usado fue CIP (Ciprofloxacina) 1 µg/ml. Las barras de error indican las desviaciones standard (n=5)

Conclusiones:

Se puede inferir que la adición de TFMSMS altera la fluidez de la membrana lipídica (orden de las cadenas hidrocarbonadas). La temperatura de transición de fase T_m del complejo TFMSMS: DPPC cambió levemente hacia menores valores con respecto al lípido puro, estabilizando la fase líquido cristalina. Esto se pudo comprobar por medidas de FTIR y DSC (**Figura 3** y **Figura 4**). También observamos un paulatino ascenso en el número de conformeros *gauche* a medida que aumenta la concentración de TFMSMS, así las cadenas hidrocarbonadas muestran una mayor libertad de movimiento. El TFMSMS es capaz de inhibir en un valor estadísticamente significativo el crecimiento para las cepas *P. aeruginosa* PA14 (**Figura 5**), *P. aeruginosa* PAO1 (**Figura 6**) y *S. aureus* 6538 (**Figura 7**). Existe una correlación lineal entre la inhibición del crecimiento y la formación de biopelículas para la cepa PA14 de *P. aeruginosa*. Por otro lado, la inhibición de la biopelícula fue mayor que la inhibición del desarrollo en las otras dos cepas estudiadas, lo que indica que el compuesto no sólo afecta el crecimiento sino también a la formación de la biopelícula.

El comportamiento del TFMSMS en las diferentes cepas y en los biofilms, podría atribuirse a cambios de fluidez y pérdida de cooperatividad (C.U.) que produce este compuesto en las bicapas lipídicas. (**Tabla**)

Referencias:

- Galván, J. E., Defonsi Lestard, M. E., Piro, O. E., Echeverría, G., Molina, R.D.I., Arena, M. E., Ulic, S. E., Tuttolomondo, M. E., Ben Altabef, A., *New J. Chem.*, 2018, 42, 11073-11084.
- Galván, Jorge E., Díaz, Sonia Tuttolomondo, María Eugenia y Ben Altabef A., *CAFQI XXI*, Poster, Tucumán 2019.