


Metales y la salud de la piel

M.H.Torre
Cátedra de Química Inorgánica, DEC
Facultad de Química, UDELAR



Importancia del tema

- ❖ Elementos considerados como tóxicos para la piel: As, Be, Cd, Cr, Pd, Ni y Th (National Institute of Occupational Safety and Health, USA)
- ❖ Cosméticos
- ❖ Elementos esenciales para la salud de la piel: su suplementación, sus efectos, etc.

Deficiencia de Zn



Acrodermatitis enteropática
producida por la imposibilidad
de adquirir Zn por el tracto
gastrointestinal

Veremos:

Piel

Estudios de permeación

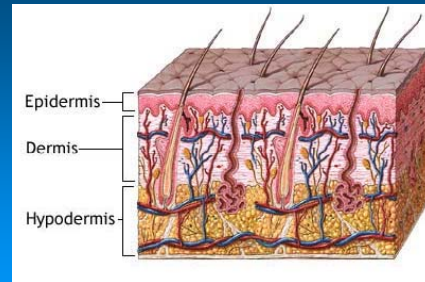
Factores que afectan la absorción cutánea

Nuestro trabajo

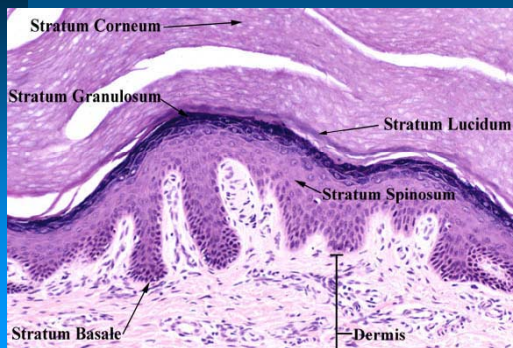
Piel

- ❖ Peso: 4200g (6%)
- ❖ Sup. 1.72 m²
- ❖ Vol. Sanguíneo: 1.800 mL
- ❖ Funciones:
 - Protección frente a agentes ambientales físicos (UV, temp.), químicos y microbiológicos
 - Termorregulación
 - Órgano sensorio
 - Funciones endócrinas (síntesis de vit. D y feromonas)

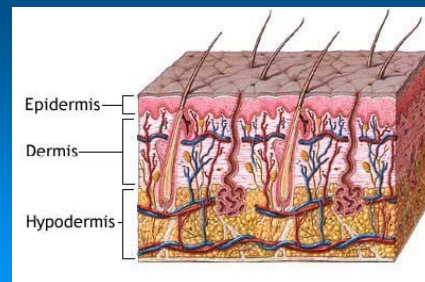
Capas de la piel



Capas de la piel

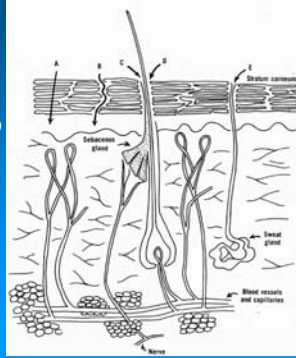


Capas de la piel



Rutas de penetración

- ❖ Transcelular (A)
- ❖ Intercelular (B)
- ❖ Vía glándula sebácea (C)
- ❖ Transfolicular (D)
- ❖ Vía glándula sudorípara (E)
- ❖ Mixta (más común la intercelular)



Penetración de fármacos



Estudio de la permeación de la piel

- ❖ Modelos matemáticos que simulan la secuencia de procesos involucrados en la absorción
- ❖ Uso de relaciones estructura-actividad cuantitativas (QSAR)
 - General: algoritmos incluyen vasto rango de sustancias sin referencia a su naturaleza química
 - Específico: algoritmos incluyen pequeño número de moléculas químicamente similares.

Estudio de la permeación de la piel

- ❖ Ley de Fick (difusión en estado estacionario)

$$dA/dt = D_m K_m S \frac{dC}{dx}$$



dA/dt es la velocidad de transferencia de masa
 D_m coeficiente de difusión
 K_m coeficiente de partición entre la membrana y el vehículo
 dC/dx es el diferencial concentración a través de la membrana con respecto al espesor de la misma

Si la conc. del lado donador es alta (dosis infinita) y si se considera integridad de la membrana :

$$dA/dt = K_p S C \quad \text{donde} \quad K_p = K_m \cdot D_m / x \quad \begin{matrix} K_p & \text{permeabilidad} \\ x & \text{espesor} \end{matrix}$$

$$K_m \rightarrow K_{org/w} \rightarrow K_p \text{ (Treherne)}$$

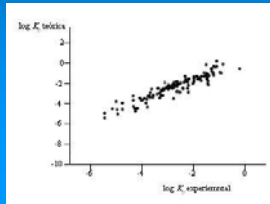
Algoritmos predictivos de la permeabilidad de la piel

Algoritmo general (Flynn-1990 y Potts y Guy-1992):

$$\log K_p = a(\text{hidrofobicidad}) - b(\text{tamaño molecular}) + c$$

$$\log K_p = 0.781 \log K_{o/w} - 0.011 PM - 2.19$$

(D. Fitzpatrick et al., Chemosphere, 55 (2004) 1309-1314)



n=143

$r^2 = 0.88$

Benzaldehido, diclofenac, atropina, etc

Algoritmos predictivos de la permeabilidad de la piel

Algoritmo específico:

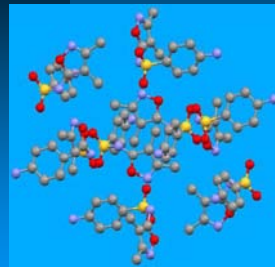
$$\log K_p = [a_1 - \beta] VM + a_2 \pi + a_3 H_d + a_4 H_a + a_5 R_2 + \log D_o / \sigma$$

VM=volumen molecular, π y R_2 =términos de polarizabilidad del soluto, H_d =enlace de H donador y H_a =enlace de H aceptor,

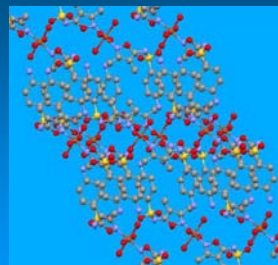
D_o =difusividad de una molécula hipotética con VM=0

$[a_1 - \beta]$	a_3	a_4	$\log D_o / \sigma$	r^2	n (alc. orgánicos)
2.56	-1.72	-3.93	-4.85	0.94	37

Cambio de lipofilia con la complejación



Sulfoxazol



[Ni(sulfoxazole)2(H2O)4]·2H2O

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

❖ Factores exógenos:

- **Dosis**
- Vehículo
- Volumen molecular
- Naturaleza del enlace químico y polaridad
- Estado de oxidación
- Reactividad proteica y deposición en los tejidos
- pH
- Tiempo de post-aplicación

K_2CrO_4 (M)	$10^3 \times K_p$ (cm/h)
0.00001	7
0.005	2.7
2.1	0.23

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

❖ Factores exógenos:

- Dosis
- Vehículo
- Volumen molecular
- Naturaleza del enlace químico y polaridad
- Estado de oxidación
- Reactividad proteica y deposición en los tejidos
- pH
- Tiempo de post-aplicación

HgCl ₂ (M)	Vehículo	10 ³ x K _p (cm/h)
0.00013	H ₂ O	0.44
0.00013	DMSO	3.3
0.04	H ₂ O	1.6
0.04	DMSO	2.7

Absorción percutánea de Ni (NiSO₄ 2 mM) en varios vehículos

• Coeficientes de permeabilidad, K_p (cm/h) x 10⁴

Duración (h)	SF	X-100	EOB	915	LF-6	LR-74	sudor
1	N/D	0.3	N/D	2	0.3	0.1	0.3
2	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0.05	0.15
3	N/D	0.7	N/D	1	2.7	0.03	0.1
4	N/D	-	N/D	0.2	-	0.025	0.025
5	N/D	N/D	-	0.6	-	0.02	0.02
48	-	0.04	-	0.1	0.12	-	-
192	-	0.04	-	1.5	0.36	-	-

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

❖ Factores exógenos:

- Dosis
- Vehículo
- Volumen molecular Cation y contraion
- Naturaleza del enlace químico y polaridad
- Estado de oxidación
- Reactividad proteica y deposición en los tejidos
- pH
- Tiempo de post-aplicación

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

❖ Factores exógenos:

- Dosis
- Vehículo
- Volumen molecular
- Naturaleza del enlace químico y polaridad Exposición de 0.1-0.5 mL de dimetilmercurio aumenta la concentración de Hg en sangre a 4000µg/L (normal: <10 µg/L)
- Estado de oxidación
- Reactividad proteica y deposición en los tejidos
- pH
- Tiempo de post-aplicación

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

- ❖ Factores exógenos:
 - Dosis
 - Vehículo
 - Volumen molecular
 - Naturaleza del enlace químico y polaridad
 - **Estado de oxidación**
 - Reactividad proteica y deposición en los tejidos
 - pH
 - Tiempo de post-aplicación

El estrato córneo es la barrera que inhibe la difusión del Cr(III) formando complejos estables con proteínas que disminuyen la velocidad de difusión y no así el cromato

Dermatitis de contacto en trabajadores por Cr de cementos



Factores que afectan la absorción percutánea de metales

- ❖ Factores exógenos:
 - Dosis
 - Vehículo
 - Volumen molecular
 - Naturaleza del enlace químico y polaridad
 - Estado de oxidación
 - **Reactividad proteica y deposición en los tejidos**
 - pH
 - Tiempo de post-aplicación

•Irreversibles: Al(III), Ag(I), Hg(II), Cr(III), Ni(II)
•Reversible: Zn(II) (metalotioneínas)

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

- ❖ Factores exógenos:
 - Dosis
 - Vehículo
 - Volumen molecular
 - Naturaleza del enlace químico y polaridad
 - Estado de oxidación
 - Reactividad proteica y deposición en los tejidos
 - **pH**
 - Tiempo de post-aplicación

Conc. (M)	pH	$K_p \times 10^3$ (cm/h)
0.017 Cr ₂ O ₇ ²⁻	5.6	1.2
0.017 CrO ₄ ²⁻	8.0	1.68
0.239 Cr ₂ O ₇ ²⁻	1.4	1.07
0.239 CrO ₄ ²⁻	12.8	1.52

ZnO: K_p (pH=5.4) > K_p (pH=7.4) (piel humana *in vitro*)

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

❖ Factores exógenos:

- Dosis
- Vehículo
- Volumen molecular
- Naturaleza del enlace químico y polaridad
- Estado de oxidación
- Reactividad proteica y deposición en los tejidos
- pH
- **Tiempo de post-aplicación**

CoCl₂ 0.085M alta permeabilidad en las primeras 5h (piel humana) y después decae

Factores que afectan la absorción percutánea de metales

❖ Factores endógenos:

- Edad de la piel
 - Disminución de la irrigación sanguínea
 - Disminución del contenido lipídico de la superficie
- Anatomía de la zona
 - Delgadez de la capa córnea
 - Variación en la composición de los lípidos intercelulares
- Controles homeostático

Estudio de complejos Cu-sulfonamidas, potenciales fármacos para patologías de la piel

Cu: ¿por qué?

- ❖ Es un elemento esencial
- ❖ Se está jerarquizando su importancia
- ❖ Antecedentes de problemas por deficiencias



Procesos fisiológicos Cu-dependientes

- ❖ Eritropoyesis
- ❖ Oxidación de aminas biógenas
- ❖ Formación del tejido conectivo
- ❖ Biosíntesis de la mielina
- ❖ Mantenimiento de la fc. gustativa normal
- ❖ Pigmentación
- ❖ Metabolismo lipídico
- ❖ Metabolismo glucídico
- ❖ Protección contra los radicales libres



Enzimas Cu-dependientes

- ❖ Superóxido dismutasa
- ❖ Lisil oxidasa
- ❖ Tirosinasa
- ❖ Dopamina β-hidroxilasa
- ❖ Ceruloplasmina
- ❖ Amino oxidasas
- ❖ Citocromo c oxidasa
- ❖ Factor V de la coagulación
- ❖ Peptidil monooxigenasa



SOD

Origen de O_2^- :



Toxicidad del O_2^- :



O_2^- , Cu y piel

- ❖ La piel es vulnerable a especies oxigenadas reactivas como O_2^- producido por ej. por radiaciones UVB en la epidermis y puede reaccionar con lípidos de las membranas celulares, proteínas y ácidos nucleicos
- ❖ O_2^- puede producir eritemas, degradación del tejido conectivo, fotocarcinogénesis, entre otros.
- ❖ Células localizadas en la superficie de la piel tienen alto potencial antioxidante (SOD).
- ❖ La actividad SOD disminuye cuando hay deficiencia de Cu.
- ❖ Numerosos complejos de Cu presentan una importante actividad SOD-mimética y son capaces de suplementar Cu activando la SOD

Lisil oxidasa

Requerida para el entrecruzamiento de la elastina y el colágeno con el fin de mantener y reparar el tejido conectivo

$$\begin{array}{ccc}
 & \text{L.O.} & \\
 -\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 & \longrightarrow & -\text{CH}_2-\text{CH}=\text{O}
 \end{array}$$

Procolágeno
Proelastina

Deficiencia de Cu en la reticulación de la elastina y el colágeno



❖ Organismos deficientes en Cu presentan trastornos en el mantenimiento y reparación del tejido conectivo.

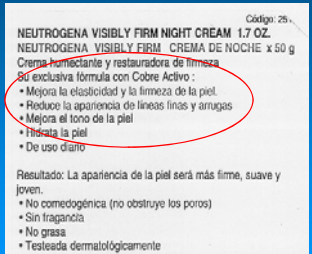
Tirosinasa

❖ Requerida para la síntesis de dihidrofenilalanina (DOPA) y sus consecuentes transformaciones a melanina, esencial en la pigmentación

$$\begin{array}{ccc}
 \text{HO-C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH} & \longrightarrow & \text{HO-C}_6\text{H}_3(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH} \longrightarrow \dots \text{melanina} \\
 & & \text{DOPA}
 \end{array}$$

❖ Reducción en la biosíntesis de melanina disminuye la protección frente a los rayos UV y causa pigmentación no uniforme.

Cu en cosméticos



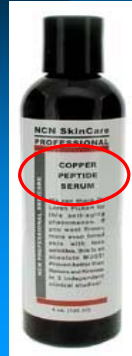
NEUTROGENA VISIBLY FIRM NIGHT CREAM 1.7 OZ.
NEUTROGENA VISIBLY FIRM CREMA DE NOCHE x 50 g
 Crema hidratante y restauradora de firmeza
 Su exclusiva fórmula con Cobre Activo:

- Mejora la elasticidad y la firmeza de la piel
- Reduce la apariencia de líneas finas y arrugas
- Mejora el tono de la piel
- Hidrata la piel
- De uso diario

Resultado: La apariencia de la piel será más firme, suave y joven.

- No comedogénica (no obstruye los poros)
- Sin fragancia
- No grasa
- Testeada dermatológicamente

Cu en cosméticos



ANTI AGING SKIN CARE WITH COPPER PEPTIDE

FROM DR. LOREN PICKART
(THE TURN BACK THE CLOCK DOC).

The strongest Copper Peptide available!

Por qué sulfonamidas?

- ❖ Sulfonamidas: nueva jerarquización
- ❖ Sulfonamidas usadas en dermatología
- ❖ Complejos metálicos con mayor actividad antibacteriana que las sulfonamidas libres (Ag(I)-sulfadiazina, sulfonamidas-Ce(III), Bi(III), Cd(II) y Hg(II))

Qué se busca con la complejación?

- ❖ Activar enzimas o lograr efectos enzimomiméticos
- ❖ Mejorar la biodisponibilidad de drogas
- ❖ Aumentar la estabilidad de la droga activa
- ❖ Lograr menores efectos secundarios
- ❖ Lograr compuestos con menor resistencia
- ❖ Cambiar los efectos farmacológicos
- ❖ Lograr fármacos activos por vía oral

Qué se busca con la complejación?

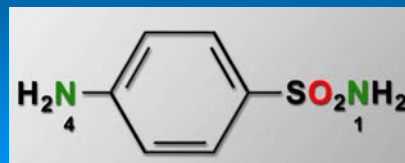
- ❖ Activar enzimas o lograr efectos enzimomiméticos
- ❖ Mejorar la biodisponibilidad de drogas
- ❖ Aumentar la estabilidad de la droga activa
- ❖ Lograr menores efectos secundarios
- ❖ Lograr compuestos con menor resistencia
- ❖ Cambiar los efectos farmacológicos
- ❖ Lograr fármacos activos por vía oral

Objetivo

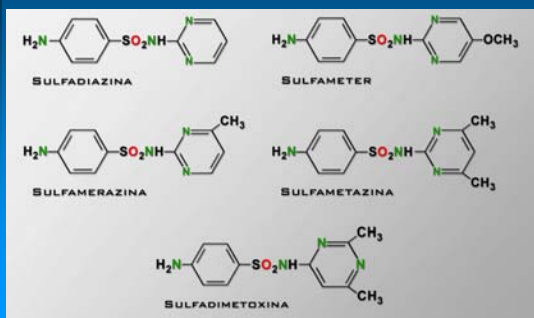
- ❖ Obtener nuevos complejos Cu(II)-sulfonamidas bien caracterizados.
- ❖ Seleccionar compuestos:
 - con actividades SOD-mimética
 - con mejor actividad antibacteriana
 - con absorción percutánea
 - aptos para ciertas patologías dermatológicas (heridas, quemaduras, procesos infecciosos, acné, entre otros) donde es necesaria una acción antibacteriana, de regeneración y/o protección de los tejidos de la piel.

Sulfonamidas

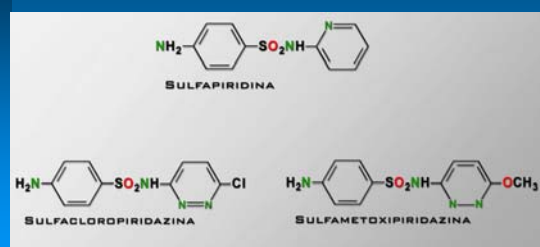
Derivados de la sulfanilamida



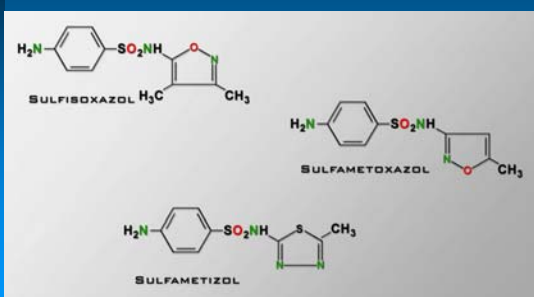
Sulfonamidas con grupo pirimidina



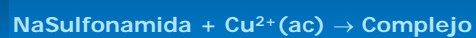
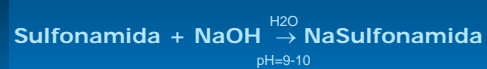
Sulfonamidas con grupo piridina y piridazina



Sulfonamidas con grupo isoxazol y diazometizol



Síntesis de complejos Cu(II)-sulfonamidas



Verde Marrón

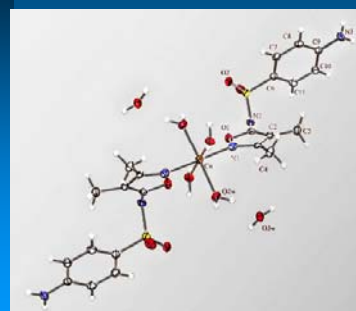
Cu:L = 1:2

Yield: 40-78%

Información espectroscópica

Complex	λ (nm) en nujol	EPR
$[\text{Cu}(\text{sulfadiazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	425/581/732	dímero
$[\text{Cu}_2(\text{sulfameter})_4] \cdot 2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	358/557/841	dímero
$[\text{Cu}(\text{sulfamerazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	436/556/710	dímero
$[\text{Cu}(\text{sulfamethazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	488/568/708	-
$[\text{Cu}(\text{sulfadimethoxine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	430/574	monómero
$[\text{Cu}(\text{sulfapyridine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	392/526/712	dímero
$[\text{Cu}(\text{sulfachlorpyridazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	348/536/710	-
$[\text{Cu}(\text{sulfamethoxyppyridazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	362/562/714	-
$[\text{Cu}(\text{sulfisoxazole})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	479/555	monómero
$[\text{Cu}(\text{sulfamethoxazole})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	426/627	monómero
$[\text{Cu}(\text{sulfamethoxazole})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	456/568/648	-
$[\text{Cu}(\text{sulfamethizole})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	458	monómero

ORTEP de $[\text{Cu}(\text{sulfisoxazole})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



Crystal system: Monoclinic
Space group: C2/c

Bond distances (Å):
Cu-O(2W) 2.051(3)
Cu-O(1W) 2.071(3)
Cu-N(1) 2.074(3)

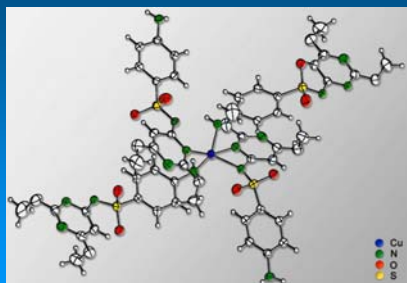
Bond angles [°]:
O(2W)-Cu-O(1W) 87.25(12)
O(2W)-Cu-O(1W) 92.75(12)
O(2W)-Cu-N(1) 88.97(13)
O(2W)-Cu-N(1) 91.03(13)
O(1W)-Cu-N(1) 88.87(12)
O(1W)-Cu-N(1) 91.13(12)
O(2W)-Cu-N(1) 91.03(13)

E. Kremer, G. Facchin, E. Estévez, P. Alborés, E.J. Baran, J. Ellena and M. H. Torre, J. Inorg. Biochem., 100, 1167, 2006

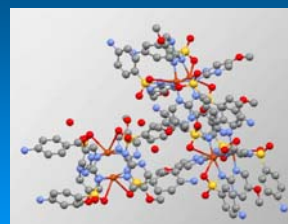
ORTEP de Cu(sulfadimetoxina)₂·DMSO

Crystal system: Monoclinic
Space group: C2/c

Bond distances (Å):
Cu-Nh 1.980(2)
Cu-N 2.047(2)
Cu-Nh 2.048(2)
Cu-N 2.369(3)
Bond angles [°]:
115.7(3)



M.H.Torre, G.Facchin, E.Kremer, E.Castellano, O.Piro, E.J.Baran, J. Inorg. Biochem. 94(2003)200

Unidad asimétrica de [Cu₂(sulfameter)₄]₃·2.5H₂O

J. Ellena, E. Kremer, G. Facchin, E.J.Baran, O. R. Nascimento, A.J. Costa-Filho, M.H.Torre, *Polyhedron* 26 (2007) 3277-3285

Actividad antibacteriana

Test de dilución en agar basado en las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards

Sulfamethoxazol



[Cu(Sulfamethoxazole)₂]·H₂O

128(µg/mL) ... 64(µg/mL) 32(µg/mL) 16(µg/mL) ... 0.25(µg/mL)

Actividad antibacteriana: MIC(µg/mL)

Heterociclo	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Pirimidina	Sulfameter / [Cu ₂ (sulfameter) ₄] ₃ ·2.5H ₂ O	16 / 32	>128 / > 128
	Sulfadiazina / [Cu(sulfadiazina) ₂]H ₂ O	32 / >128	8 / >128
	Sulfamerazina / [Cu(sulfamerazina) ₂]H ₂ O	32 / >128	32 / 128
Pirimidina	Sulfametazina / [Cu(sulfametazina) ₂]H ₂ O	32 / 32	128 / 128
	Sulfadimetoxina / [Cu(sulfadimetoxina) ₂]H ₂ O	16 / 16	>128/ >128
Piridina	Sulfapiridina / [Cu(sulfapiridina) ₂]H ₂ O	>128/>128	>128 / >128
	Sulfasalazina / [Cu(sulfasalazina)]·2H ₂ O	>400/>400	>400/>400

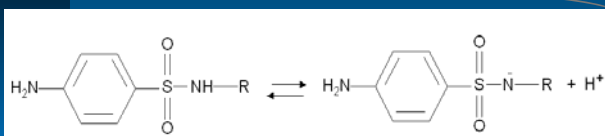
Actividad antibacteriana: MIC($\mu\text{g/mL}$)

Het.	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
piridazina	Smetoxipiridazina/ [Cu(Smetoxipiridazina) ₂] \cdot H ₂ O	8 / 8	32 / 32
quinoxalin	Sulfaquinoxalina/ [Cu(sulfaquinoxalina) ₂] \cdot 4H ₂ O	64/64	64/256
tiazol	Succinilsulfatiazol [Cu(succinilsulfatiazol) ₂] \cdot 8H ₂ O	>400/>400	>400/>400

Actividad antibacteriana: MIC($\mu\text{g/mL}$)

Het.	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Isoxazol	Sulfisoxazol [Cu(sulfisoxazol) ₂ (H ₂ O) ₄] \cdot 2H ₂ O	>128/ 128	>128/ 128
	Sulfametoxazol [Cu(sulfametoxazol) ₂ (H ₂ O) ₄] \cdot 3H ₂ O [Cu(sulfametoxazol) ₂] \cdot H ₂ O	16/ 4 16	128/ 32 16
Diazometizol	Sulfametizol Cu(sulfametizol) ₂ \cdot H ₂ O	64/32	64/32
Pirazol	Sulfafenazol/ [Cu(sulfafenazol) ₂] \cdot 8H ₂ O	80/80	>400/200

Actividad antibacteriana

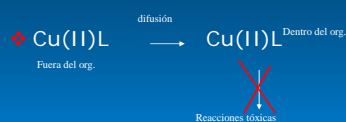


- ❖ Factores que afectan el pKa y lipofilia afectan el MIC
- ❖ La forma iónica de las sulfonamidas es la especie activa pero tiene baja lipofilia
- ❖ La forma molecular tiene alta lipofilia pero no es activa a menos que se ionice en cierto grado dentro de la célula.

Lipofilia: coeficiente de partición
n-octanol/suero fisiológico

Complejo	K
Sulfisoxazole	0.73 \pm 0.10
[Cu(sulfisoxazole) ₂ (H ₂ O) ₄] \cdot 2H ₂ O	8.5 \pm 1.2
Sulfamethoxazole	0.23 \pm 0.03
[Cu(sulfamethoxazole) ₂ (H ₂ O) ₄] \cdot 3H ₂ O	0.67 \pm 0.11
[Cu(sulfamethoxazole) ₂] \cdot H ₂ O	0.78 \pm 0.11
Sulfamethizole	0.49 \pm 0.07
[Cu(sulfamethizole) ₂] \cdot H ₂ O	5.4 \pm 0.7
Sulfafenazol	0.72 \pm 0.11
[Cu(sulfafenazol) ₂] \cdot 8H ₂ O	0.63 \pm 0.11

Propuesta 1



- ❖ Compuestos inactivos frente a cepas resistentes obtenidas de exudados humanos

Propuesta 2



- ❖ $E \text{ Cu(II)/Cu(I)} = 0.400\text{-}0.529 \text{ mV}$

Ni (II)-sulfisoxazol



Crystal system: monoclinic
 Space group: C2/c
 Bond distances (Å)
 Ni-N1 2.079(3)
 Ni-O1(W) 2.048(2)
 Ni-O2(W) 2.076(2)
 Bond angles (°)
 O1(W)-Ni-O2(W) 87.36(10)
 O1(W)-Ni-N1 89.00(11)
 O2(W)-Ni-N1 89.15(11)

Melina Mondelli, Verónica Bruné, Graciela Borthagaray, Javier Elena, Otaciro R. Nacimiento, Clarice Q. Leite, Alzar A. Batista, Maria H. Torre
J. Inorg. Biochem. 102 (2008) 285-292

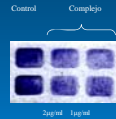
Actividad SOD-mimética

Complejo	$IC_{50} (\mu\text{M})$
$[\text{Cu}(\text{sulfadiazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	66
$[\text{Cu}_2(\text{sulfamer})_4]_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$	41*
$[\text{Cu}(\text{sulfamethazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	98
$[\text{Cu}(\text{sulfamethoxypyridazine})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	52
$[\text{Cu}(\text{sulfamethoxazole})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	42*
Native SOD	0.04

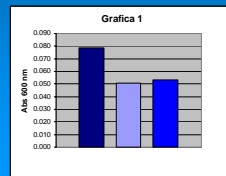
* Actividad SOD similar a la de complejos farmacológicamente activos, asociados con la dismutación del radical superóxido.

Estudios celulares en cultivos de MDCK

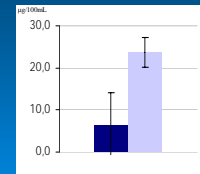
Técnica 1: Tratadas con y sin complejo Cu-Sulfametoxazol (en DMSO) y revelado con NBT incubado por 4 hs



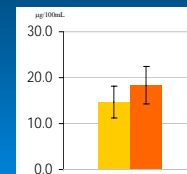
Técnica 2: Solubilización del NBT reducido con KOH y DMSO. Lectura en lector de micro ELISA con filtro de 600 nm



Medición de Cu en los diferentes compartimentos celulares



■ Cultivos control
■ Cultivos tratados con complejo Cu-sulfametoxazol



■ Fracción citosólica
■ Fracción membrana y mitocondria

Estudios *in vitro* de permeación y retención cutánea

- ❖ Formación de micropartículas con polímeros de ácido láctico-co-glicólico (PLGA)
- ❖ Estudios de permeación usando celdas de difusión
- ❖ Estudios de retención cutánea usando la técnica de "tape stripping"

Métodos para estudiar la permeación



Conclusiones

- Hemos obtenido nuevos complejos de Cu, bien caracterizados y hemos sistematizado el análisis espectroscópico.
- Hemos obtenido complejos con mayor actividad antimicrobiana que los ligandos libres y con actividad SOD-mimética.
- El $[\text{Cu}(\text{sulfamethoxazole})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ provoca un aumento de Cu intracelular en cultivos de MDCK.
- Los ensayos preliminares indican que el compuesto activa la SOD.

Participantes

❖ **Universidad de la República, Uruguay**

Facultad de Química, Química Inorgánica, DEC: **G. Facchin, M. Mondelli y V. Bruné**

Facultad de Medicina, Bioquímica: **S. Chifflet, M. Foglia**

❖ **Universidade de São Paulo, (SP), Brazil**

Laboratorio de Cristalografía: **J. Ellena** y Grupo de Biofísica Sérgio Mascarenhas: **A.J. Costa-Filho, O. R. Nascimento**, Departamento de Física, San Carlos

Facultad de Ciencias Farmaceuticas de Ribeirão Preto, Departamento de C. Farmaceuticas: **J. Maldonado**

❖ **UNLP, CEQUINOR: E.J. Baran**