

Estudio del comportamiento antioxidante y pro-oxidante de complejos metálicos: actividad SOD mimética, TBARS y producción de peróxido

Dra. María H. Torre
 Prof. Titular de Química Inorgánica (DEC)
 Facultad de Química, UdelaR
 Montevideo, Uruguay

1

Comportamiento dual

§ Complejos de Cu(II) con bases de Schiff (C. Steinkuhler et al., Biochem. Pharmacol., 39(1992)533 y 42(1991) 1821

§ Complejos de Cu(II)-di-iminas, con actividad SOD y en presencia de H₂O₂ producen especies oxidantes (M.L.P. Santos *et al.*, J. Inorg. Biochem. 71(1998)71, J.Chem. Soc. Dalton Trans (2001) 838

2

Cambios en el balance redox de las células: consumo y producción de ROS



§ El estrés oxidativo es causado por un desbalance entre los sistemas antioxidantes y la producción de oxidantes.

§ Parece estar asociado con enfermedades multifactoriales (100), especialmente cáncer, enfermedades cardiovasculares y desórdenes inflamatorios.

3

Radical

§ Según IUPAC radical es un átomo o grupo de átomos conteniendo uno o más electrones desapareados.

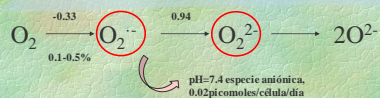
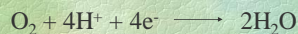
§ El radical puede ser cargado positiva o negativamente: (NO)⁻, (OH)⁻, NO⁺ puede ser indicado por un punto sobre escrito a la derecha sobre el símbolo del elemento o grupo antes que la carga.

§ Metales, iones o complejos con electrones desapareados no se consideran radicales

Pure Appl. Chem.,72(3) (2000) 437-446
 © 2000 IUPAC

Cómo se forman las especies reactivas de oxígeno?

§ Aniones superóxido y peróxido



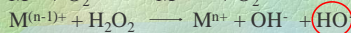
§ Otras fuentes de O₂^{·-} son la x.o., NADPH oxidasas, entre otras

5

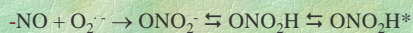
Cómo se forman las especies reactivas de oxígeno?

§ Radical hidroxilo

-Mecanismo de Haber-Weiss



HO[·]: oxidante poderoso e indiscriminado, iniciador de reacciones por radicales libres

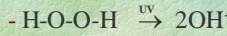


ONO₂H* formado por dos radicales libres [ONO[·] OH[·]]

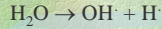
6

Cómo se forman las especies reactivas de oxígeno?

§ Radical hidroxilo



- Ultrasonido



En líquido amniótico humano, in vitro (J.Ultrasound Med. 6, 643, 1987)

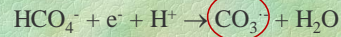
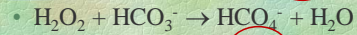
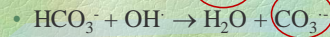
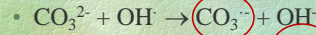
En la remoción de cataratas (Arch. Ophthalmol. 120, 1348, 2002) \rightarrow Ácido hialurónico

Fragmentación de cristales renales por litotricia (J.Urol., 167, 327, 2002) \rightarrow allopurinol

7

Cómo se forman las especies reactivas de oxígeno?

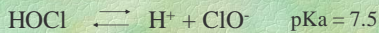
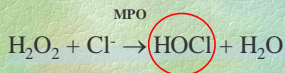
§ Radical carbonato



§ Se encuentra como especie aniónica (pKa<0), Oxidante fuerte ($E^\circ \text{CO}_3^{\cdot-}/\text{HCO}_3^- = 1.78\text{V}$, alcoholes, aminas primarias, tioles y fenoles)

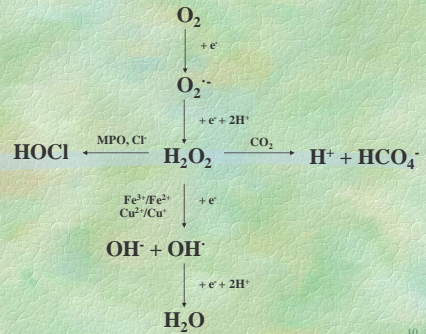
Cómo se forman las especies reactivas de oxígeno?

§ Ácido hipocloroso



9

Ruta de las ROS



10

Antioxidantes: algunos ejemplos

ENZIMÁTICOS

- Superóxido dismutasa
- Catalasa
- Glutatión Peroxidasa
- Selenoproteína P

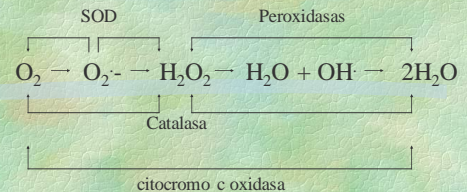
NO ENZIMÁTICOS

- Vitamina E
- Vitamina C
- β -caroteno
- Selenio
- Zinc, Manganeso, Hierro

Bulger EM & Maier RV. Arch Surg 2001

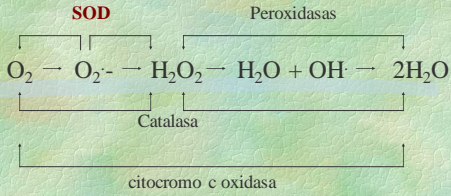
11

Enzimas detoxificadoras



12

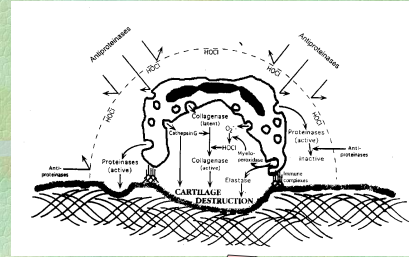
Enzimas detoxificadoras



Desequilibrios → enfermedades

13

Degradación del tejido conectivo



ORGOTEINA (SOD bovina)

14

SOD

§ Fridovich y Mc Cord (*J. Biol. Chem.*, 1969, 244, 6049)

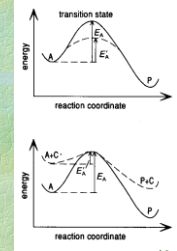
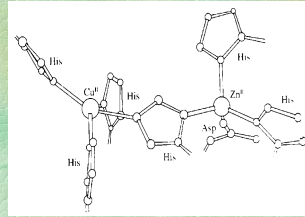
§ Cu/Zn, Mn, Fe, Ni

§ Cu/Zn mayor velocidad de reacción

15

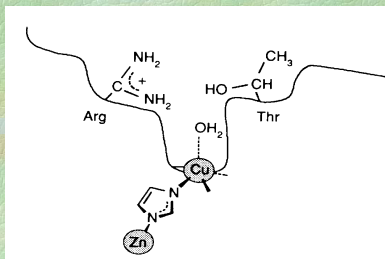
Estructura de la SOD (eritrocitos bovinos)

§ Dos subunidades de PM 16300



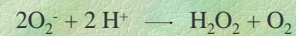
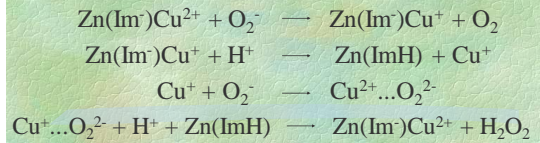
16

Guía electrostática



17

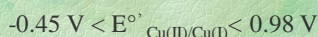
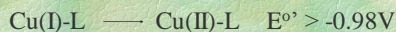
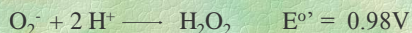
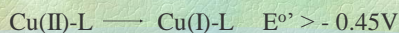
Mecanismo propuesto



$$\begin{array}{l}
 V = k[\text{enz}][\text{O}_2] \quad k_{\text{SOD}} = 2.3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} \\
 \text{pH}=7, 25^\circ\text{C} \quad k_{\text{no enz}} = 8.5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}
 \end{array}$$

20

Potenciales redox de Cu, Zn-SOD



Actividad SOD vs enfermedades

§ Miméticos de bajo PM

§ Actividad SOD mimética buena correlación con: isquemia-reperfusión miocárdica, inflamación, isquemia-reperfusión cerebral, ALS (esclerosis amiotrófica lateral), apoptosis neuronales, cáncer y SIDA

§ Ventajas sobre las SOD nativas:

- Acceso a espacios intercelulares (permeabilidad celular)
- Ausencia de inmunogenicidad
- Mayor tiempo de vida media en sangre
- Actividad por vía oral
- Bajo costo

22

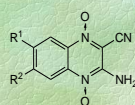
Actividad SOD mimética

§ Estudios de actividad SOD mimética de complejos de Cu(II) vs actividad antirreumática

Ligando	IC ₅₀ (μM)	Clasificación	Actividad antirreumática clínica
D-penicilamina	8	activo	+
Tiopronin, 2-Mercaptopropionil glicina	6	activo	+
Aspirina	20	inactivo	-
Indometacina	19	inactivo	-
Diisopropilsalicilato	19.5	inactivo	-
Chloroquina	19.5	inactivo	+

N.A. Roberts, P.A. Robinson, Brit. J. Rheum. 24 (1985) 128-136

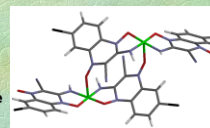
Actividad SOD mimética



L1, -R¹=-R²=-H

L2, -R¹=-F, -R²=-Cl

L3, -R¹=-Cl, -R²=-OMe



Complejo	IC ₅₀ (μM)	Sf normoxia/DS (células V79)
[Cu(L1-H) ₂]	18.0	18/6
[Cu(L2-H) ₂]	89.0	77/10
[Cu(L3-H) ₂ (H ₂ O)]	>149.0	100/1

C. Urquiola *et al.*, Journal of Inorganic Biochemistry, 102 (1) (2008)119-126 24

Actividad SOD mimética

§ Estudios de actividad SOD mimética vs la actividad antitumoral

Complejo	IC ₅₀ (μM) SOD	IC ₅₀ (μM) Hep-G2	IC ₅₀ (μM) A-498
[Cu ₂ (CH ₃ COO) ₄ (H ₂ O) ₂]	0.63	320 ± 2.5	134 ± 2.2
[Cu(salH) ₂ (H ₂ O) ₂]-0.5H ₂ O	1.23	350 ± 2.5	142 ± 1.8
[Cu(BZA) ₂ (H ₂ O)] _n	0.90	>500	>500
[Cu(CH ₃ COO) ₂ (phen)]	1.18	1.8 ± 0.3	1.0 ± 0.2
salH ₂	-	>500	>500
BZAH	-	>500	>500
Phen	-	4.1 ± 0.5	5.8 ± 0.3
Cisplatin	-	15 ± 2.7	14 ± 1

M. Devereux *et al.*, Polyhedron 26 (2007) 4073-4084)

Cómo se mide la actividad SOD mimética?

In vitro

§ Métodos indirectos

- Citocromo c
- NBT

§ Métodos directos

- Análisis cinéticos de flujo detenido (stopped flow)
- Radiólisis de pulso

In vivo

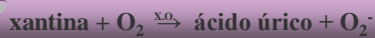
§ Colorimetría

§ Efecto protector sobre cepas de microorganismos

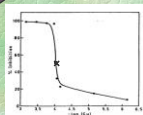
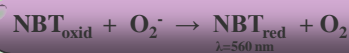
26

SOD, métodos indirectos

§ Basados en el efecto inhibitorio de la SOD sobre la reducción del cit. c o NBT por el O_2^- generado por el sistema xantina/xantina oxidasa



Y. Iwamoto *et al.*,
Chem. Pharm.
Bull. 30 (1982)
237-241; T.
Imanari *et al.*
Igaku-no-ayumi.
101 (1977) 496



SOD, métodos indirectos

§ Controles:

- Blanco con el complejo a 560 nm y con todos los reactivos menos el complejo
- Flujo univalente
- Que el complejo no participe de circuitos redox cortos:
 - Inactivación de la xantina oxidasa por los complejos
 - Reducción directa del indicador
 - Reacción directa con H_2O_2 proveniente de la dismutación del O_2^- (catalasa)
- Ausencia de contaminantes como Fe
 - $Fe(III) + O_2^- \rightarrow Fe(II) + O_2$

28

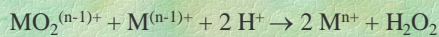
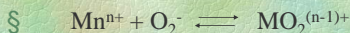
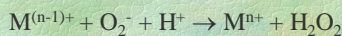
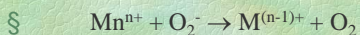
SOD, métodos indirectos

§ Reactivos:

- xantina (3 mM)
- NBT (0.75 mM)
- Na_4EDTA (3mM)
- albúmina bovina (1.50 mg/mL)
- buffer carbonato (pH= 10.2/7.8)
- xantina oxidasa (10 mg/mL)
- $CuCl_2$ 6 mM.

29

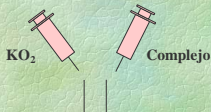
Mecanismos



30

SOD, métodos directos

§ Análisis cinéticos de flujo detenido:

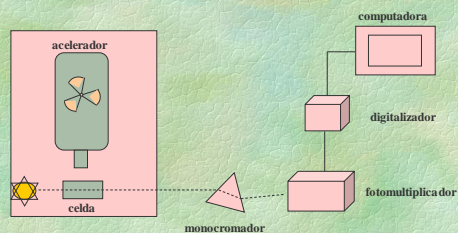


- $[O_2^-]_i > 10 \mu M$ (alta concentración)
- Variación de $[O_2^-]$ vs t ($\lambda = 245 \text{ nm}$, $\epsilon = 2350 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
- $v = k [O_2^-]^n \rightarrow k$ y n

D.P. Riley *et al.* Anal. Biochem. 196 (1991) 344-349

SOD, métodos directos

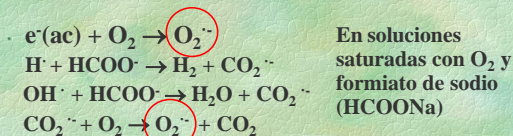
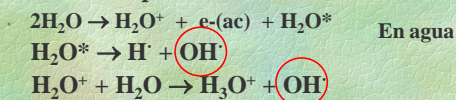
§ Radiólisis de pulso



33

SOD, métodos directos

§ Radiólisis de pulso



Comparación de los métodos

§ El método directo parece ser el más confiable y sensible para determinar el mecanismo. En el método indirecto numerosas reacciones paralelas pueden interferir y no se puede sacar información sobre el mecanismo.

§ Los métodos directos no pueden replicar el ambiente *in vivo*. El método indirecto se aproxima mucho mejor a las condiciones *in vivo* que el método directo.

§ El método de flujo detenido está limitado a casos en que los compuestos posean actividades catalíticas grandes ($k_{cat} > 10^{5.5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).

§ Mejores correlaciones *in vitro/in vivo* con los métodos indirectos.

Goldstein S., Czapski G., Free. Res. Comms. 12-13 (1991) 5-10
González Alvarez et al., Inorg. Chem. 8 (2003) 112-120

SOD mimética *in vivo*: Efecto protector sobre cepas de microorganismos

§ *Saccharomyses cerevisiae* ATCC96687, deficiente en CuSOD y *Saccharomyses cerevisiae* ATCC96688, deficiente en MnSOD

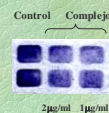
§ Evaluación del efecto protector de los complejos contra los radicales libres producidos en la respiración

- Placas con diferentes soluciones de complejos
- Siembras de diferentes soluciones de microorganismos
- Se mide el crecimiento

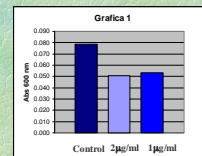
González -Alvarez, Inorg. Chem. 8 (2003) 112-120

SOD en cultivos celulares 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



Cambios en el balance redox de las células



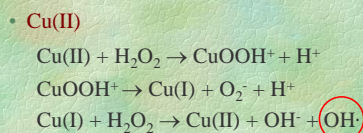
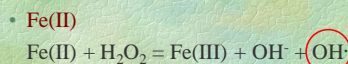
§ El estrés oxidativo es causado por un desbalance entre los sistemas antioxidantes y la producción de oxidantes.

§ Parece estar asociado con enfermedades multifactoriales, especialmente cáncer, enfermedades cardiovasculares y desórdenes inflamatorios.

38

Producción de OH^\cdot

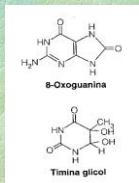
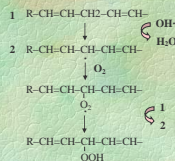
§ Reacción de Fenton:



39

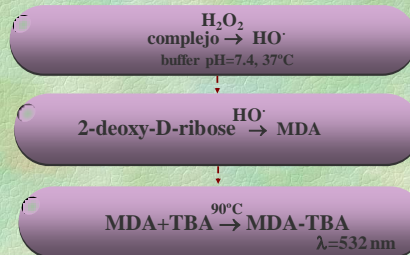
Daño producido por el OH·

- § En proteínas
- § En las membranas: oxidación de ácidos grasos en los lípidos (peroxidación lipídica)
- § En los ácidos nucleicos: ruptura de la cadena de polinucleótidos y cambiando la estructura de las bases del ADN



40

TBARS

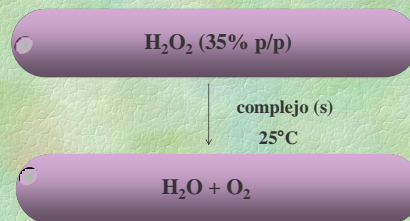


41

Peróxido de Hidrógeno

- § Es tóxico a niveles 10 a 100 μM
- § Altos niveles producidos por L-aminoácidos oxidadas contribuyen a la toxicidad de venenos de víbora
- § Acción antibacteriana de la baba de caracol y propóleos
- § Desinfectante

Actividad catalasa



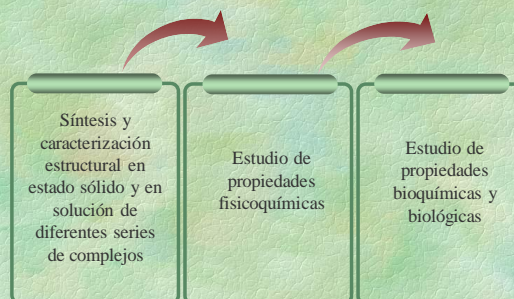
Polyhedron 26 (2007) 4073
J.Chem.Soc.Chem.Comm (1994)
2643

Vol O₂ (± 0.10 cm³)

Estudio de series de complejos homolépticos y heterolépticos de Cu, en la búsqueda de nuevas especies antitumorales

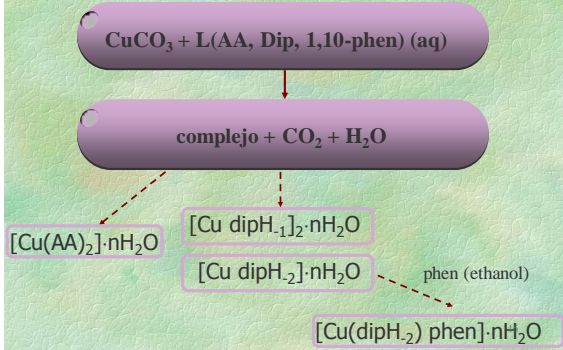
44

Nuestro trabajo

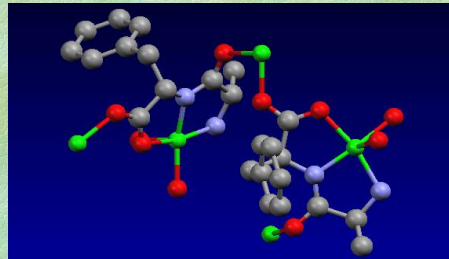


45

Síntesis



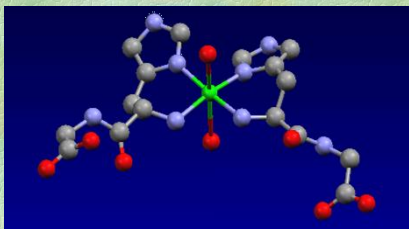
$[\text{Cu}(\text{Ala-Phe})] \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$



Z Naturforsch., 55b, 1157 (2000)
 Inorg. Chem., 45, 8 (2006)

47

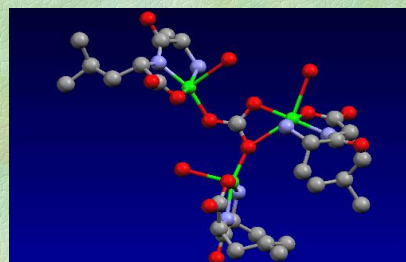
$[\text{Cu}(\text{His-Gly})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$



Inorg. Chim. Acta 355(2003) 408

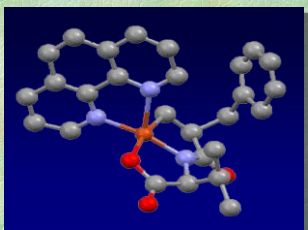
49

$[\text{Cu}_3(\text{Ala-LeuH}_2)_3(\text{H}_2\text{O})_3\text{CO}_3] \cdot \text{PF}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$



50

$[\text{Cu}(\text{Phe Val}) \text{phen}]$



51

Datos estructurales en solución: ecuación de Prenesti

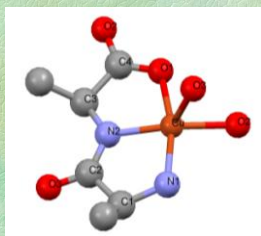
$$\lambda_{\text{max}} = 10^3 / \sum_{i=1}^4 n_i v_i \quad ({}^1\text{Prenesti et al. Polyhedron, 18(1999)3233})$$

Átomo donador	v_i coeficientes de los grupos ecuatoriales
N (amina)	0.450
N (péptido deprotonado)	0.495
O (carboxilato)	0.353
O (agua)	0.296

$\text{Cu}(\text{N}_a\text{N}_p\text{O}_c\text{O}_c)$, 606nm $\text{Cu}(\text{N}_a\text{O}_c\text{O}_w\text{O}_w)$, 716nm
 $\text{Cu}(\text{N}_a\text{N}_p\text{O}_w\text{O}_w)$, 650nm $\text{Cu}(\text{O}_w\text{O}_w\text{O}_w\text{O}_w)$, 840nm
 $\text{Cu}(\text{N}_a\text{N}_p\text{O}_c\text{O}_w)$, 627

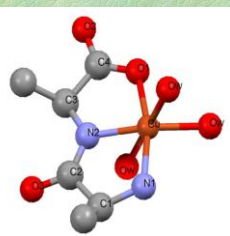
52

Entorno de Cu en estado sólido y en solución acuosa



$\lambda_{\text{calc.}} = 606 \text{ nm}$

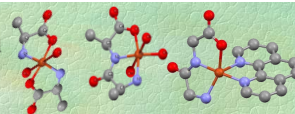
En estado sólido



$\lambda_{\text{calc.}} = 627 \text{ nm}$

En solución acuosa

Centros de Cu en solución acuosa



N	complex	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})/\epsilon_M(\text{Lcm}^{-1}\text{M}^{-1})$	Equat. donor set	Cu geom.
1	[Cu(gly) ₂]-H ₂ O	632/ 44.5	N ₂ O ₂	Oh
2	[Cu(ala) ₂]	618/54.6	N ₂ O ₂	Oh
3	[Cu(val) ₂]	622/53.3	N ₂ O ₂	Oh
4	[Cu(ala-gly)]-H ₂ O	630/75.0	N ₂ O ₂	Oh
5	[Cu(phe-val)]	625/ 85.0	N ₂ O ₂	Oh
6	[Cu(ala-gly)(phen)]-4H ₂ O	630, 850sh/90.0	N ₄	SBP
7	[Cu(phe-val)(phen)]-5H ₂ O	632, 850sh/113	N ₄	SBP

Mecanismos propuestos de actividad antitumoral en complejos de Cu

- § DNA como blanco
- § Cambios en el balance redox de la célula
 - Actividad SOD mimética
 - Formación de especies oxigenadas citotóxicas (O₂⁻, O₂²⁻, OH[•])
- § Producción de otras moléculas tóxicas
- § Daño a las mitocondrias
- § Inducción de apoptosis
- § Inhibidores de la angiogénesis
- § Transporte de ligandos activos
- § Complejos con isótopos radioactivos

55

Mecanismos propuestos de actividad antitumoral en complejos de Cu

- § DNA como blanco
- § Cambios en el balance redox de la célula
 - Actividad SOD mimética
 - Formación de especies oxigenadas citotóxicas (O₂⁻, O₂²⁻, OH[•])
- § Producción de otras moléculas tóxicas
- § Daño a las mitocondrias
- § Inducción de apoptosis
- § Inhibidores de la angiogénesis
- § Transporte de ligandos activos
- § Complejos con isótopos radioactivos

56

Actividad SOD mimética

57

Actividad SOD mimética

- § 1979-Oberlay y Buettner reportaron que numerosas células cancerígenas tenían menor actividad SOD que las no cancerosas
- § El tratamiento con SOD nativa disminuía el crecimiento de tumores sólidos implantados en ratones y aumentaba la sobrevida
- § Complejos con actividad SOD mimética producían decrecimiento de tumores y aumento de la sobrevida:

[Cu(3,5-dips)₂], [Cu(gly-his-lys)], [Cu-AA], Cu-casiopéinas, etc.

58

Actividad SOD mimética

§ Estudios de actividad SOD mimética vs la actividad antiproliferativa de esos compuestos (Urquiola *et al.*, *J. Inorg. Biochem.* 102(1) (2008) 119).

§ Complejos de Cu y Mn con actividad SOD mimética presentaron actividad sinérgica con fármacos antitumorales (Laurent *et al.*, *Cancer Research* 65(3) (2005) 948; Bols *et al.*, *Reproductive Toxicology* 23 (2007) 513)

59

Actividad SOD mimética

Complejo	IC ₅₀ (μM)	Complejo	IC ₅₀ (μM)
[Cu(gly) ₂]-H ₂ O	34.0	[Cu(His-Gly) ₂ (H ₂ O) ₂]	50
[Cu(ala) ₂]	32.3	[Cu(AlaThr)]	33
[Cu(val) ₂]	30.3	[Cu(Ala Leu)]	22
[Cu(Ala-Gly)]	124	[Cu(Ala Tyr)]	8.4
[Cu(Ala-Ile)]	111	[Cu(Ala Phe)]·1/2 H ₂ O	5.0
[Cu(Ala-Val)]	79	[Cu(Phe-Val)]	4.6
[Cu(Val Phe)]	65	[Cu(ala-gly)(phen)]·4H ₂ O	10.0
[Cu(Phe Phe)]	58	[Cu(phe-val)(phen)]·5H ₂ O	3.7

Cu,ZnSOD IC₅₀ = 0.04

Metal Ions in Biology and Medicine, Vol 7, 11, (2002) y Vol 11, 117, (2011)

60

Factores que favorecerían la actividad SOD

§ Posibilidad de acercamiento del superóxido al centro metálico

§ Flexibilidad en el arreglo del centro metálico para facilitar la interacción con el superóxido seguido por la rápida transferencia electrónica formándose Cu(I)

§ La estabilización del enlace Cu-O₂⁻ por los electrones pi de los ligandos coordinados al Cu, especialmente N de anillos heteroaromáticos

González-Alvarez *et al.*, *Inorg. Chem.* 8 (2003) 112
Díaz A. *et al.*, *Inorg. Chem.Com.* 2 (1999) 358

Factores que favorecerían la actividad SOD

§ Posibilidad de acercamiento del superóxido al centro metálico

§ Flexibilidad en el arreglo del centro metálico para facilitar la interacción con el superóxido seguido por la rápida transferencia electrónica formándose Cu(I)

§ La estabilización del enlace Cu-O₂⁻ por los electrones pi de los ligandos coordinados al Cu, especialmente N de anillos heteroaromáticos

González-Alvarez *et al.*, *Inorg. Chem.* 8 (2003) 112
Díaz A. *et al.*, *Inorg. Chem.Com.* 2 (1999) 358

Producción de ROS

63

Formación de especies reactivas de oxígeno (ROS)

· La formación de ROS vs actividad antiproliferativa fue estudiada en series de complejos de Cu:

- L. Ruiz *et al.*, *Toxicology in vitro*, 25(4) (2011) 868
- M.A. de Almeida *et al.*, *Redox Report*, 11(1) (2006) 25

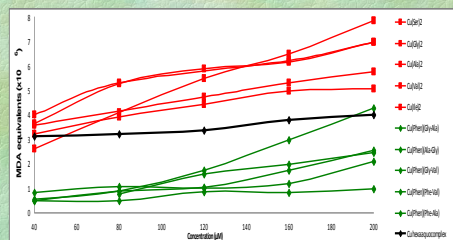
64

TBARS: Daño oxidativo a 2-deoxy-D-ribosa

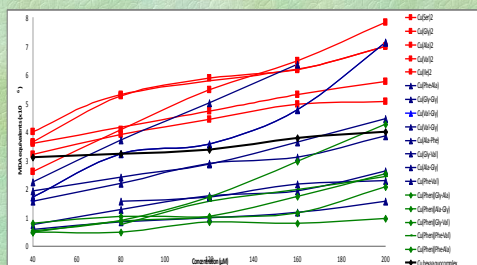
Conc. complejo (μM)	Material reactivo a TBA (expresado como equivalentes de MDA, μM)							
	Cu(II)	1	2	3	4	5	6	7
80	3.2	3.9	5.3	5.3	3.7	1.6	0.88	0.74
160	3.8	5.0	6.2	6.2	6.4	2.2	3.0	2.0

Metal Ions in Biology and Medicine, Vol 11, 117, (2011)

Equivalentes de MDA, μM

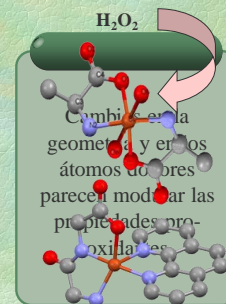


Equivalentes de MDA, μM



Conclusiones

En los complejos Cu-diphen, donde el centro de Cu está más protegido, la producción de OH está reducida, en cambio en los complejos Cu-AA en donde existen moléculas de agua coordinadas más fácilmente reemplazables la producción es mayor.

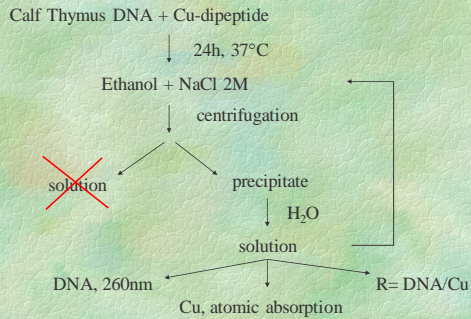


Mecanismos propuestos de actividad antitumoral en complejos de Cu

- § DNA como blanco
- § Cambios en el balance redox de la célula
 - Actividad SOD mimética
 - Formación de especies oxigenadas citotóxicas (O_2^- , O_2^{2-} , OH^\cdot)
- § Producción de otras moléculas tóxicas
- § Daño a las mitocondrias
- § Inducción de apoptosis
- § Inhibidores de la angiogénesis
- § Transporte de ligandos activos
- § Complejos con isótopos radioactivos

Interacción de complejos Cu-dipéptidos con ADN

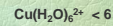
Estequiometría de la interacción complejo/ADN



71

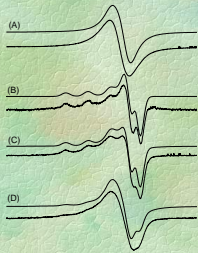
R=ADN/[complejo]

Complejo	mol bases de ADN/mol Cu	Complejo	mol bases de ADN/mol Cu
Cu(His-Ala) ₂ (H ₂ O) ₂	742	Cu(Phe-Ala)	89
Cu(Phe-Phe)	495	Cu(Ala-Ala)	87
Cu(His-Gly) ₂ (H ₂ O) ₂	299	Cu(Phe-Leu)	75
Cu(Val-Phe)	120	Cu(Ala-Thr)	74
Cu(Ala-Val)	106	Cu(Ala-Ile)	72
Cu(Val-Gly)	105	Cu(Ala-Leu)	50
Cu(Gly-Phe)	101	Cu(Gly-Val)	41
Cu(Ala-Tyr)	99	Cu(Ala-Phe)-1/2H ₂ O	24



72

Interacción de [Cu(Ala-Phe)]-ADN por EPR



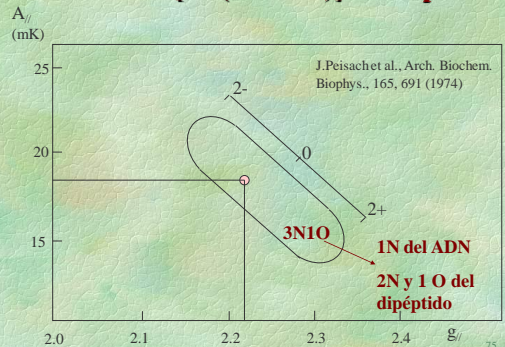
- banda X:
- A- solución congelada
 - B- complejo en presencia de ADN (30 mmol compl./mol bases de ADN)
 - C- complejo en presencia de ADN (110 mmol compl./mol bases de ADN)
 - D- complejo en presencia de ADN (500 mmol compl./mol bases de ADN)

La existencia de dos componentes espectrales avala la hipótesis que el ADN es capaz de enlazar sólo una pequeña cantidad del Cu(dipeptido) y el complejo remanente queda libre.

Simulaciones: Dr. Otaciro R. Nascimento

74

Interacción de [Cu(Ala-Phe)]-ADN por EPR



75

Ensayos biológicos

Inhibición de la proliferación de cultivos HeLa

§ La actividad antiproliferativa de los complejos en células HeLa fue evaluada incubando las células con 5 y 20 μM de cada complejo por 24 hours. El porcentaje de inhibición fue calculado usando el ensayo de sulforhodamina B (SRB).

76

79

Inhibición de la proliferación de cultivos HeLa

Comp.	5μM	20μM	Comp.	5μM	20μM
[Cu(ala-gly)]	0	29±7	[Cu(ala-phe)(fen)]	43±7	80±10
[Cu(phe-val)]	0	23±7	[Cu(gly-val)(fen)]	56±6	79±5
[Cu(ala-gly)(phen)]	42 ±16	74±6	Cu(phe-ala)(fen)	48±7	73±8
[Cu(phe-val)(phen)]	39 ±17	65±8	[Cu(phe-phe)(phen)]	24±4	58±11
1,10-phen	0	18±7	Cu(H ₂ O) ₆ ²⁺	0	0

• Cisplatin: IC₅₀ = 8μM en células HeLa cells (48h). ⁸⁰

Resumen general

complejo	SOD (IC ₅₀ , μM)	TBA 80/160, μM	% HeLa Inhib. 5/20, μM	Cu geom
1	34.0	3.9/5.0	-	Oh
2	32.3	5.3/6.2	-	Oh
3	30.3	5.3/6.2	-	Oh
4	124	3.7/6.4	0/29	Oh
5	4.6	1.6/2.2	0/23	Oh
6	10.0	0.88/3.0	42/74	SBP
7	3.7	0.74/2.0	39/65	SBP

Los complejos Cu-diphen con mayores SOD inhiben más ROS por SOD mimética y ROS endógenos. SOD inhiben más ROS por SOD mimética que otros Cu-ROS.

81

Conclusiones

La habilidad de producir ROS podría contribuir a explicar la actividad antiproliferativa de Cu-AA

La actividad antiproliferativa de los complejos Cu-dipéptidos no se correlacionaron con la producción de ROS ni la SOD mimética

82

Conclusiones

La significativa actividad SOD mimética podría contribuir a explicar la actividad antiproliferativa de los complejos Cu-diphen

La habilidad potencial de estos complejos a intercalarse en el ADN?

83

Participantes

§ Facultad de Química (UDELAR), Inorganic Chemistry (DEC), Montevideo, Uruguay:
Dr. G. Facchin, N. Alvarez, S. Iglesias

§ Facultad de Medicina (UDELAR), Histology and Embriology Department, Montevideo, Uruguay:
Dr. R. Sapiro

§ Universidade de São Paulo, Institute of Physics, São Carlos, Brazil: Dr. J. Ellena, Dr. O. R. Nascimento

84

