

# DESARROLLO DE NUEVOS COMPLEJOS METÁLICOS CON XILITOL: SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN, ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA Y PROPUESTA DE UN POSIBLE MECANISMO DE ACCIÓN PARA *C. albicans*

Eduardo Santi<sup>1</sup>, Graciela Borthagaray<sup>2</sup>, María H. Torre<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Química Inorgánica (DEC) y <sup>2</sup>Microbiología (BIOCLIN), Facultad de Química (UdelAR), Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay  
e-mail: santieduardo@hotmail.com

## Introducción

El xilitol (xyl) es uno de los azúcares de mayor interés farmacéutico por sus usos y aplicaciones como edulcorante y agente antimicrobiano en preparaciones farmacéuticas y alimentarias. En particular, en el ser humano es utilizado y metabolizado por la vía de las pentosas, sin que haya efectos nocivos en las concentraciones usuales. Por el contrario, el xilitol no puede ser usado como fuente de energía por numerosos microorganismos, inhibiendo el crecimiento y actuando como antimicrobiano. De allí que se lo use para prevención de caries (chicles con xilitol) y otitis media aguda (40% menos de episodios con *S. pneumoniae*), para profilaxis y tratamiento de candidiasis, así como en la prevención de la colonización en intubados y heridas, particularmente frente a *P. aeruginosa*.<sup>1,2</sup>

En vista de los antecedentes del ligando libre, se planteó el estudio de sus complejos de Cu (II) y Zn (II), cationes que también presentan actividad antibacteriana y/o antifúngica, en la búsqueda de nuevos compuestos con una mejor actividad antimicrobiana.

## Síntesis y caracterización

Los complejos fueron sintetizados mezclando soluciones metanólicas del ligando y de los cloruros de Cu(II) o Zn(II), adicionando NaOH hasta precipitación de los complejos.

Los resultados obtenidos fueron:

**-Na<sub>2</sub>[Cu<sub>3</sub>(xylH-4)<sub>2</sub>].NaCl.4.5H<sub>2</sub>O** (Cu-xyl); Calc.(%)/ Exp.(%): C 17.85/18.03, H 3.72/4.02, Cl 5.28/4.99, Cu 28.3/28.5. Rendimiento 79%.

Termogravimetría: Exp.(%)/Calc.(%) 11.76 /12.05 (4.5 H<sub>2</sub>O).

Espectro electrónico:  $\lambda_{\max}$  = 645nm (cromóforo CuO<sub>4</sub>)

**-[Zn<sub>4</sub>(xylH-4)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>].NaCl.3H<sub>2</sub>O** (Zn-xyl); Calc.(%)/ Exp.(%): C 16.99/16.42, H 3.68/3.57, Cl 5.03/4.90, Zn 37.02/37.00. Rendimiento 30%.

Termogravimetría: Exp(%)/ Calc.(%) 12.77/12.73 (3 H<sub>2</sub>O); 5.02/5.03 (Cl).

RMN de <sup>1</sup>H del xilitol y del Zn-xyl en DMSO deuterado: desaparición de picos en el rango 3.8-3.5 ppm.

Los espectros IR mostraron la coordinación de los cationes metálicos con los grupos alcohólicos desprotonados, a través de la desaparición de las bandas  $\delta(\text{OH})$  en el plano (1452-1210 cm<sup>-1</sup>), correspondientes a los alcoholes primarios y secundarios del xilitol. Asimismo, luego de la coordinación se observó que las bandas  $\nu_{\text{as}}(\text{C-C-O})$  se corrieron a frecuencias menores mientras que las  $\nu_{\text{s}}(\text{C-}$

C-O) se mantuvieron casi incambiadas y aparecieron las bandas  $\nu(\text{Cu-O})$  y  $\nu(\text{Zn-O})$  a 278 y 280  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente.

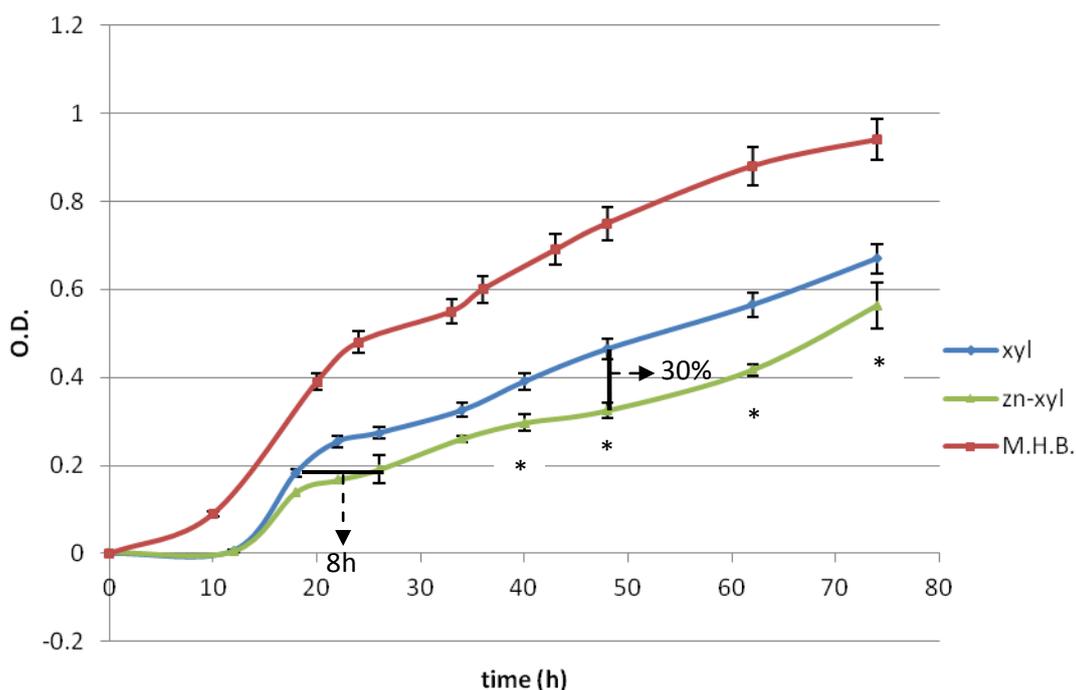
### Actividad microbiológica

Se obtuvieron las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) del xilitol, de los complejos y las sales metálicas, frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, utilizando el método por dilución en placa. Todas las especies ensayadas fueron inactivas para el *S. aureus* y *E. coli*, mientras que para *P. aeruginosa* los complejos fueron más activos que el ligando libre ( $\text{CIM}=64 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Por otra parte, se estudió el comportamiento de los complejos frente a *C. albicans*, aislada de una muestra clínica (bionúmero 6502546065327771).

Se realizaron las curvas de crecimiento de *C. albicans* en presencia de Zn-xyl, Cu-xyl y xyl vs tiempo. El Cu-xyl fue menos activo que el xyl por lo tanto se discontinuó su estudio. La Figura 1 muestra los resultados para el xyl y Zn-xyl. A las 20h hubo un retraso en el crecimiento de 8h con Zn-xyl en comparación con xyl y a las 48h se observó una disminución del 30% en el crecimiento, en presencia de Zn-xyl respecto a xyl.

**Fig. 1.** Curvas de crecimiento de *C. albicans* en caldo Mueller-Hinton (M.H.B.)



Asimismo, se determinó el efecto post agente (PAE) del xilitol y del Zn-xyl, hallándose los valores de 13,0h y 14,0h respectivamente, mostrando una buena supresión de crecimiento de la levadura luego de la exposición al agente antimicrobiano.<sup>3</sup>

Por otra parte, se diseñó una estrategia experimental para evaluar la captación del Zn-xyl por las células de *C. albicans*. Se determinaron por absorción atómica los niveles de Zn absorbidos por las células microbianas (pellets), luego de la incubación con Zn-xyl durante 4 y 6 h y sin incubación, así como el Zn restante en los

sobrenadantes y en suspensiones control. Con estos resultados, con las determinaciones de los pesos secos de los pellets y tomando la densidad celular como  $1.11 \text{ mg mL}^{-1}$ , se calculó la concentración celular de Zn en *C. albicans* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Concentración celular de Zn calculada ( $\text{mgmL}^{-1}$ ) en *C. albicans*

Tiempo de Incubación (h) / Condición	0 h/ sin Zn-xyl	0 h/ con Zn-xyl	4 h/ con Zn-xyl	6 h/ con Zn-xyl
[Zn] <sub>celular</sub> ( $\text{mgmL}^{-1}$ )	0.0020 ± 0.0008	-	0.21 ± 0.02	0.19 ± 0.02

De los resultados obtenidos se puede concluir que:

- las células de levadura concentraron Zn alrededor de 100 veces después del tratamiento con el complejo.
- la máxima concentración de Zn se obtuvo antes de las 4h de incubación.
- el decrecimiento de la concentración de Zn en los sobrenadantes estuvo de acuerdo con el aumento del Zn en los pellets.
- el aumento de la concentración del Zn que se observa en los pellets podría ser explicada considerando una difusión simple del complejo a través de la membrana celular y considerando que hay un cambio de especies dentro y fuera de la célula microbiana.

## Conclusiones

Se obtuvieron nuevos complejos metálicos con xilitol, caracterizados analítica y estructuralmente.

Los mismos tuvieron mejor actividad microbiológica frente a *P. aeruginosa* que el ligando libre. Asimismo el Zn-xyl fue más activo frente a *C. albicans* que el xilitol y mostró un PAE promisorio. Una hipótesis plausible de su mecanismo de acción sería que el complejo transporta xilitol dentro de la célula y éste actuaría como metabolito activo, inhibiendo el crecimiento de la levadura. Esta hipótesis es también compatible con las formas de las curvas de crecimiento de Zn-xyl y xyl, lo que sugeriría similares mecanismos de acción.

**Agradecimientos:** Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) y PEDECIBA Química

## Referencias:

- 1-Ichikawa T.,Yano Y.,Fujita Y.,Kashiwabara T.,Nagao K.,J Dent,36,965,2008.
- 2-Ammons M.C.B., Ward L.S., Fisher S.T., Wolcott R.D., James G.A., Int J Antimicrob Agents, 33, 230, 2009.
- 3-Craig W.A.,Gudmundsson S.,Postantibiotic effect. in:Lorian V,Ed.,Antibiotics in Laboratory Medicine,4<sup>th</sup> ed. Baltimore,Md:The Williams & Wilkins Co.,296, 1996.