

# **FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS (PRODUCCIÓN 2015-2016)**

**TÍTULO:** Formulación de biopelículas mucoadhesivas de quitosano.

**AUTORES:** Ottaviano, Noelia; Barrera, Maria G.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Publicación periódica anual de la Sociedad de Biología de ROSARIO. Año 2016, volumen 1, numero 1. ISSN 2314-1484.

Fecha: 5 y 6 de diciembre de 2016

**RESUMEN:** Durante el proceso de pre formulación es necesario considerar la vía de administración de la forma farmacéutica optando por la más cómoda, económica y aceptable para el paciente, además de considerar su eficacia terapéutica. Con el objeto de lograr resultados terapéuticos concretos en la salud y calidad de vida del paciente. El empleo de biopelículas mucoadhesivas en liberación de fármacos a través de diferentes rutas transmucosales ha ganado una atención significativa en los últimos años. La membrana oral es altamente vascularizada y muy accesible. Uno de los polímeros de origen natural con las propiedades adecuadas para ser empleado como mucoadherente es el quitosano, a partir del cual se puede llevar a cabo el desarrollo de nuevos sistemas terapéuticos más eficiente para aplicación sobre mucosas. El quitosano es un biopolímero catiónico y posee la capacidad de formar películas mucoadhesivas y con el agregado de otros polímeros y de sustancias auxiliares como plastificantes pueden mejorarse sus propiedades mecánicas, flexibilidad, elasticidad y capacidad de hinchamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar las características y propiedades de las biopelículas formuladas con quitosano, combinado con un polímero aniónico y con uno iónico, con y sin el agregado de plastificante para el potencial tratamiento de afecciones locales en la mucosa oral. **Materiales y Métodos:** Los materiales utilizados fueron quitosano, goma arábica e hidroxipropilmetilcelulosa (polímeros formadores de las biopelículas) y polientilenglicol (PEG) 400 (plastificante). Para la formulación de las biopelículas primero se prepararon geles con las soluciones de quitosano (polímero catiónico) y soluciones de goma arábica (polímero iónico) y soluciones de hidroxipropilmetilcelulosa (polímero aniónico) que luego fueron deshidratados en estufa a distintas temperaturas (30-50 °C) y a tiempos variables (8-72 h). El agregado del plastificante fue (0-5% p/p). Se determinó el comportamiento reológico de los geles. La morfología de los sistemas fue observada por microscopia electrónica de barrido. También se evaluaron el índice de hinchamiento, la opacidad, rugosidad, ausencia de grumos, burbujas y espesor. **Resultados:** Los geles presentaron un comportamiento reológico de tipo no Newtoniano pseudoplástico, adecuado para ser colocadas y secadas en placas de Petri. Las biopelículas mostraron buenas características macroscópicas, translúcidas con un tono amarillento, sin grumos, adecuadas para ser empleadas en la mucosa oral. Las imágenes obtenidas por microscopia óptica mostraron una superficie homogénea, sin burbujas de aire. A través de sus índices de hinchamiento se determinó que es necesaria la inclusión de al menos un 3% de PEG 400 en la formulación para mejorar su manipulación de manera significativa. Las condiciones óptimas de secado fueron a 40° C por 24 h, observándose que a mayor agregado de plastificante aumenta el tiempo de secado. **Conclusiones:** Podemos concluir que las biopelículas obtenidas constituyen potenciales sistemas transportadores de fármacos para el desarrollo de formas farmacéuticas mucoadhesivas, proporcionando una vía de administración accesible para tratamientos locales en las mucosas oral.

---

**TÍTULO:** Formulación de matrices poliméricas mucoadhesivas con actividad antifúngica basadas en quitosano/hidroxipropil metil celulosa

**AUTORES:** Tejada, Guillermo; Barrera, M. Gabriela; Sortino, Maximiliano; Piccirilli, Gisella; Lamas, M.Celina; Leonardi Darío.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Publicación periódica anual de la Sociedad de Biología de Rosario. Año 2016, volumen 1, numero 1. ISSN 2314-1484.

**FECHA:** 5 y 6 de diciembre de 2016

**RESUMEN:** Las candidiasis bucales son infecciones causadas por hongos levaduriformes en la lengua y el revestimiento de la boca del paciente. El tratamiento de esta patología se basa en el empleo de enjuagues bucales y geles, acompañados de comprimidos. Las matrices bucales adhesivas conteniendo un fármaco antifúngico proporcionan una alternativa a las formas tradicionales para el tratamiento esta infección. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo y caracterización de matrices mucoadhesivas cargadas con nitrato de miconazol (NM). Se desarrollaron tres formulaciones que contienen NM, polietilenglicol 400 como plastificante y como polímeros formadores de las matrices: quitosano (Q) e hidroxipropilmetil celulosa (HPMC). Formulación de las matrices: el Q (3% p/v) se solubilizó en una solución de ácido láctico. La solución de HPMC (3% p/v) se preparó por disolución de la misma en agua. Esta última se goteó sobre la solución de Q, luego el NM solubilizado en polietilenglicol 400 se adicionó a la mezcla y se agitó (200 rpm/2 h). La solución resultante se colocó en placas de Petri y se secó en estufa a (40°C/48 h). Las composiciones de las matrices fueron: 1) 100% Q, 2) 50% Q - 50% HPMC y 3) 100% HPMC, todas cargadas con NM. No se realizaron matrices sin estar cargadas con NM. Las mismas fueron caracterizadas en términos de espesor, resistencia mecánica y elongación. La morfología de las matrices fue observada por microscopía electrónica de barrido. La adhesión de las películas fue realizada empleando encías de cerdo como modelo de tejido. Se evaluó la liberación in vitro del NM y la actividad antimicrobiana de las matrices, colocando discos de 2 mm de diámetro en un cultivo de *Candida albicans* (ATCC 90028). El espesor de las matrices varió desde 0,33 hasta 0,60 mm. La resistencia a la tracción de 0,8 hasta 4,8 N, la elongación de 150 a 421% y la adhesividad fue de 0,4 N independientemente de los polímeros empleados. La actividad antifúngica in vitro de las formulaciones se confirmó por la generación de halos de inhibición (23 a 34 mm) en placas de cultivo de *C. albicans*. Los valores resistencia a la tracción y elongación obtenidos permitirían una fácil manipulación de las matrices; adicionalmente los valores de adhesividad de las mismas son adecuados para que las matrices permanezcan adheridas en la encía del paciente, finalmente la actividad in vitro ha demostrado la efectividad de las matrices ensayadas para permitir la liberación del fármaco. Por lo tanto, las matrices bucales basadas en Q - HPMC y cargadas con NM podrían ser una alternativa para el tratamiento de la candidiasis oral.

---

**TÍTULO:** Formulation and evaluation of mucoadhesive buccal based on chitosan/hydroxypropyl methylcellulose and chitosan/pectin.

**AUTORES:** Tejada, G.; Barrera, M.; Piccirilli, G.; Sortino, M; Fratini, A.; Salomón, C.; Lamas, M.; Leonardi, D.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR), sección Conference Proceeding.

**FECHA:** 27 y 28 de octubre de 2016

**RESUMEN:** Chitosan (CH) is a cationic polyelectrolyte in aqueous acidic media. Several polymers form matrices with CH, modifying its physicochemical properties, among them are hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and pectin (PC). HPMC is a non ionic polymer and PC is a linear complex anionic polysaccharide. The aim of this work was the development of buccal mucoadhesive films based on CH in combination with PC and HPMC loaded with miconazole nitrate (MN), as a model drug. The films were thoroughly characterized in term of mechanical properties; adhesiveness; swelling; and MN release. Interactions between polymers were analyzed by infrared spectroscopy and the MN crystallinity studied by differential scanning calorimetry (DSC). Finally, *in vitro* antifungal activity against *Candida* cultures was investigated. CH solutions (3% w/v) in lactic acid (10% v/v) were dripped on PC or HPMC (3% w/v), at 80 °C under magnetic stirring. MN (2% w/w) was solubilized in PEG 400 (1 mL) and added to the polymeric solutions. The mixtures were stirred (200 rpm, 2h), cast on Petri dishes and dried. The thickness of all formulations (0.22-0.67 mm), were adequate to avoid the discomfort. The adhesive properties of CH have not been modified when it was combined whit PC or HPMC. The IR spectra of films based on CH and PC indicated strong interactions between  $-NH_3^+$  groups of CH and the  $-COO^-$  groups of PC. DSC studies showed that MN loaded in films was in an amorphous state. Films *in vitro* antifungal activity loaded with MN was higher than MN (raw material) and also higher than unloaded CH film Neither, PC nor HPMC showed activity against *Candida* cultures.

---

**TÍTULO:** Estabilidad de antocianinas al someterlas a calentamiento con fuego directo y microondas

Autores: Soares Bahiano S, Bertoluzzo S M R, Bertoluzzo M G, Mayer L, Colombres C

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** 101° Reunión de la Asociación Física Argentina

**FECHA:** 4 al 7 de octubre de 2016

**RESUMEN:** Entre los compuestos bioactivos presentes en los alimentos funcionales y principalmente en frutos y vegetales, se encuentran las antocianinas, las cuales han sido objeto de innumerables estudios que muestran diversas propiedades biológicas para la prevención de enfermedades crónico-degenerativas como son cáncer, aterosclerosis y diabetes, así como alteraciones relacionadas con la elevada ingesta de carbohidratos y grasas que contribuyen a aumentar los niveles séricos de glucosa y triglicéridos que suelen desencadenar el desarrollo del síndrome metabólico. La ingesta de antocianinas es mucho más común que hace algunos años ya que están más disponibles comercialmente hoy en día, y los beneficios a la salud de las antocianinas han llegado a ser evidentes. Dependiendo del país y de los hábitos nutricionales de los individuos, la ingesta diaria de antocianinas ha sido estimada en el rango de varios miligramos a cientos de miligramos por persona. Las antocianinas son compuestos altamente inestables, su estabilidad se ve afectada por diversos factores: como la presencia de luz, oxígeno, altas temperaturas, pH, la presencia de algunas enzimas, la presencia de otros compuestos como proteínas, ácido ascórbico y sulfito. El objetivo de este trabajo en primera instancia, es la extracción de antocianinas de frutos como el arándano mediante sistemas bifásicos acuosos formados por sulfato de amonio y etanol y en segunda instancia analizar la estabilidad de las antocianinas al someterlas a calentamiento con fuego directo y microondas. Para ello se separó la fase con mayor contenido de antocianinas y se preparó un extracto acuoso. Se obtuvieron esferas de alginato de calcio con el extracto acuoso de antocianinas en su interior por polimerización de alginato de sodio en una solución de cloruro de calcio. Se sometió el extracto crudo y el extracto

encapsulado a calentamiento con fuego directo y microondas. Se observó que el tratamiento con microondas, en el cual se aplica alta temperatura en corto tiempo, permite mantener e incluso aumentar la calidad sensorial y conservar las propiedades biológicas de las antocianinas, tanto en el extracto puro como en el extracto encapsulado. En cambio, a fuego directo, la estabilidad de las antocianinas fue superior en las esferas de alginato de calcio que en el extracto puro.

---

**TÍTULO:** Extracción y purificación de antocianinas de tejidos vegetales.

**AUTORES:** Becchio V; Soares Bahiano S; Lanzoni S; Bertoluzzo MG; Bertoluzzo SMR; Picó G.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** 101° Reunión de la Asociación Física Argentina

**FECHA:** 4 al 7 de octubre de 2016

**RESUMEN:** Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano. Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, y se encuentran acumulados en las vacuolas de la célula. El interés por los pigmentos antociánicos y su investigación científica se ha incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano. Las antocianinas se suelen obtener por extracción con solventes orgánicos, generalmente soluciones acuosas de metanol, etanol u otro alcohol de bajo peso molecular, para luego proceder a evaporar el solvente. Sin embargo, la recuperación de los pigmentos del medio acuoso se hace dificultosa, perdiéndose parte de extracto crudo rico en antocianinas. El objetivo de este trabajo es aplicar los sistemas bifásicos acuosos formados por sulfato de amonio y etanol en la extracción y purificación de antocianinas a partir de repollo colorado. Para ello se obtuvo la curva binodial de estos sistemas por el método de turbidimetría. A continuación se obtuvieron las líneas de unión que describen la concentración de etanol y sulfato de amonio en las dos fases aplicando la regla de la palanca. Para analizar la influencia del tiempo de extracción en el rendimiento de antocianinas se prepararon sistemas bifásicos de 10g totales con 5 por ciento de tejido vegetal molido con igual volumen de la fase superior e inferior y se los dejó en agitación durante 15, 30, 45 y 60 minutos. A continuación se filtraron y se dejaron 12hs para que se equilibraran las fases. La concentración de antocianinas en cada fase se determinó por el método de pH diferencial. La constante de reparto,  $K$ , se define como el cociente entre la concentración de antocianinas en la fase superior,  $CT$ , y en la fase inferior,  $CB$ . En una segunda etapa, se procedió a preparar sistemas bifásicos pertenecientes a una misma línea de unión de diferentes volúmenes de fases para evaluar la relación entre la eficiencia en la extracción,  $EE$ , y la razón de volúmenes,  $R$ . Las constantes de reparto para 15, 30, 45 y 60 minutos fue de: 2,9; 3; 3.6 y 3.5, respectivamente. Como  $K$ , no variaba significativamente con el tiempo de extracción, para los siguientes ensayos se tomó un tiempo de extracción de 15 minutos. Para una  $R$  de 0,5 la  $EE$  fue de 70 por ciento y para  $R$  igual a 2 la  $EE$  fue de 91 por ciento, sin embargo, en el primer caso, las antocianinas están concentradas en un volumen menor de etanol y es más rápido su evaporación pudiéndose obtener antocianinas más puras.

---

**TÍTULO:** Extracción y purificación de antocianinas en sistemas bifásicos formados por etanol y sulfato de amonio

**AUTORES:** María G. Bertoluzzo, Vanina Becchio, Stella Maris Bertoluzzo, Guillermo Picó

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** IV Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos. Libro de resúmenes. (digital). ISBN: 978-987-558-428-0.

**FECHA:** 1 y 2 de diciembre de 2016

**RESUMEN:**

En este trabajo se construyó la curva binodial para sistemas bifásicos acuosos compuestos por sulfato de amonio y etanol, mediante la técnica de turbidimetría. Se determinaron las líneas de unión por el método de la palanca preparando distintos sistemas bifásicos a los que se les determinó el volumen de la fase superior e inferior. Se realizó el reparto de antocianinas procedentes de repollo colorado en primera instancia preparando extractos alcohólicos y evaporando el solvente para luego proceder a la extracción y purificación de antocianinas utilizando directamente un homogenado de tejido vegetal. Se analizó el tiempo de extracción y la relación de volúmenes de las fases superior e inferior sobre la eficiencia de extracción. La concentración de antocianinas se determinó por el método de pH diferencial midiendo la absorbancia a 520 nm. El rendimiento del proceso de extracción fue similar para distintos tiempos (15, 30 y 60 minutos) por lo que en los siguientes análisis el tiempo de extracción fue de 15 minutos. Para sistemas bifásicos formados por 12% de sulfato de amonio, 41% de etanol y 5% de tejido vegetal, la eficiencia en la extracción fue de 93%. Comparado con el método tradicional de extracción de antocianinas con etanol acidificado, la utilización de estos sistemas bifásicos permite obtener mayor concentración de antocianinas de mayor pureza, utilizando el tejido vegetal completo.

---

**TÍTULO:** Reparto de antocianinas en sistemas bifásicos acuosos.

**AUTORES:** Soares Bahiano S, Bertoluzzo SMR, Becchio V, Bertoluzzo MG, Picó G.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** 100° Reunión de la Asociación Física Argentina.

**FECHA:** 22 al 25 de septiembre de 2015.

**RESUMEN:** Existe un gran interés en el estudio de las antocianinas en diversas áreas, como en la salud, debido a su gran potencial terapéutico, en la industria, principalmente en la fabricación de vinos y como colorantes naturales, y también en el área de educación en química, donde sirven como indicadores de pH. Las muestras ricas en antocianinas presentan una gran capacidad antioxidante. Al contrario de otros flavonoides, las antocianinas absorben fuertemente en la región visible del espectro, confiriendo una infinidad de colores, dependiendo del medio de ocurrencia. De modo general, en medio extremadamente ácido, pH entre 1 y 2, las antocianinas presentan coloración intensamente roja debido al predominio de la forma catión flavílica. Para un medio con pH mayor que 2, se observa un equilibrio entre el catión flavílico y una estructura conocida como pseudobase carbinol. Con el aumento del pH, las antocianinas pierden el color hasta tornarse prácticamente incoloras en pH aproximadamente 6, debido a la predominancia de la especie pseudobase carbinol. En valores de pH mayor

que 6,0, tanto la estructura pseudobase carbinol como la anidrobases quinoidales pueden formar la especie cis-chalcona. El objetivo de este trabajo es aislar las antocianinas presentes en distintos vegetales como, repollo colorado y cebolla colorada utilizando sistemas bifásicos acuosos. En este caso se utilizó el sistema formado por sulfato de amonio y etanol. Se determinó la curva binodial mediante el método turbidimétrico. Para ello, se colocó en un tubo graduado 1g de sulfato de amonio al 40 % peso en volumen y se agregaron cantidades crecientes de etanol hasta la aparición de turbidez, la cual se tomó como inicio de la separación de fases. Luego se agregó agua hasta la desaparición de turbidez seguida de nuevos agregados de etanol, repitiendo el proceso antes descrito. Luego de cada agregado el sistema fue agitado. Las concentraciones de ambos componentes antes de la aparición de turbidez corresponden a un punto de la curva binodial y pueden ser calculados a partir de las concentraciones iniciales de las soluciones, la masa inicial y final del sistema después de cada agregado. A partir del diagrama binodial se preparó 40 g de un sistema bifásico y se dejaron separar las fases. A continuación se colocó en un tubo de ensayo 2ml de cada una de las fases y 200 microlitros de extracto de repollo o cebolla. Se agitaron los tubos y posteriormente se centrifugaron. La concentración de antocianinas en cada fase se realizó espectrofotométricamente por el método de pH diferencial. El coeficiente de reparto se calculó haciendo el cociente de la concentración de antocianinas en la fase superior y la de la fase inferior. Para un sistema bifásico compuesto por 30 por ciento de etanol y 19 por ciento de sulfato de amonio, la constante de reparto para extractos de repollo colorado y cebolla fue similar e igual a 3,6. En el caso del extracto de cebolla colorada, la absorbancia a 520nm para un pH igual a 4,5 fue casi nula, mientras que en los extractos de repollo el valor registrado fue superior, lo que se podría suponer que en estos últimos parte de las antocianinas presentes se encuentran en su forma polimerizada y no se degradan a pH básico.

---

**TÍTULO:** Fermentación alcohólica con catalizador inmovilizado.

**AUTORES:** Stella Maris Bertoluzzo, María Guadalupe Bertoluzzo.

**LUGAR DE LA PUBLICACIÓN:** The Journal of Argentine Chemical Society. Anales de la Asociación Química Argentina. Vol. 102 (1-2).

**FECHA:** 6 al 10 de Octubre de 2015.

**RESUMEN:** La presente propuesta tiene a la investigación como base de la enseñanza y como modelo ejemplar para el encuentro con el conocimiento, y el proceso de fermentación alcohólica, como tema fundamental desde el punto de vista de su fecundidad, ya que permite la integración de varios conocimientos relacionados entre sí, de manera que queda de manifiesto el carácter estructural de la enseñanza de las ciencias. Compartimos la premisa de que hacer ciencia es la mejor manera de aprender ciencia. A través de sencillas experiencias de laboratorio se introduce a los estudiantes mediante el proceso de fermentación alcohólica, en temas de bioquímica.

---

**TÍTULO:** Análisis de la actividad óptica y asimetría quiral de cristales de tartrato de sodio y amonio.

**AUTORES:** Locret M, Bertoluzzo SMR, Bertoluzzo M G.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** 100° Reunión de la Asociación Física Argentina.

**FECHA:** 22 al 25 de septiembre de 2015.

**RESUMEN:** La inversión de la rotación óptica ocurre cuando la sacarosa es hidrolizada originando glucosa y fructosa. En esta reacción están presentes la sacarosa, glucosa y fructosa que son ópticamente activas, es decir, al poseer carbonos asimétricos tienen la propiedad de hacer rotar el plano de la luz polarizada que atraviesa sus soluciones. El ángulo de rotación, es directamente proporcional al camino recorrido en la solución, y a la concentración de las especies presentes. La constante de proporcionalidad se denomina rotación específica y es la característica de cada sustancia, depende del espesor y concentración de la muestra, de la longitud de onda del rayo incidente y de la temperatura del disolvente utilizado. La rotación específica toma valores de 66.5, +52 y - 92 grados para la sacarosa, glucosa y fructosa, respectivamente, siendo positiva si desvía la luz hacia la derecha y negativa en caso contrario. Por lo tanto, una solución de sacarosa desviará el plano de polarización hacia la derecha (+) y una disolución equimolecular de los productos de la hidrólisis, glucosa y fructosa, lo hará hacia la izquierda (-), debido a que la rotación específica de la fructosa es mayor y con sentido contrario a la originada por la glucosa. La hidrólisis parcial o total de la sacarosa presenta las siguientes ventajas: mayor higroscopicidad, menor actividad acuosa y mayor poder edulcorante (de 1 a 1.1) ya que la mezcla fructosa-glucosa obtenida es sustancialmente más dulce en comparación a la sacarosa original. Estas propiedades del hidrolizado se aprovechan en confitería para la preparación de fondants, gomas y bombones y en general en confituras húmedas. El objetivo de este trabajo es analizar la hidrólisis de soluciones de sacarosa catalizada por ácido sulfúrico, ácido cítrico y enzimas y determinar la constante de rotación específica del azúcar invertido. Se utilizó un polarímetro para medir el ángulo de rotación del plano de la luz polarizada. Para fijar las enzimas, se resuspendieron 10 g de levadura comercial de panificación en 90 ml de agua destilada. Por otro lado se preparó 100 ml de una solución de alginato de sodio al 3 por ciento en solución fisiológica de NaCl (0,9 %). Concluida la solubilización del polímero se mezcló la suspensión de levaduras y la solución de alginato. Para formar las esferas, la mezcla se dejó gotear sobre 200 ml de una solución gelificante de cloruro de calcio al 2 por ciento. Se preparó una solución de sacarosa al 20 por ciento y se le adicionó 10 g de esferas de alginato de sodio y se lo incubó durante 24 horas. A continuación se retiraron las esferitas y se midió el pH, y el ángulo de rotación. Para una solución de sacarosa al 20 %, la reacción se completó a los 70 minutos de agregado el ácido sulfúrico y varias horas después del agregado de ácido cítrico, obteniéndose en todos los casos un ángulo igual a - 4°, el cual permaneció constante con el transcurso del tiempo. Este ángulo corresponde a una solución de azúcar invertido de 20 por ciento, es decir, 10 por ciento de glucosa y 10 por ciento de fructosa. La variación del ángulo de rotación con el tiempo correspondió a un decaimiento exponencial.

---

**TÍTULO:** Análisis de la conservación de la energía en el circuito circulatorio y su relación con la presión arterial.

**AUTORES:** Orioli J, Bertoluzzo S M R, Petrocelli F, Bertoluzzo M G.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** 100° Reunión de la Asociación Física Argentina.

**FECHA:** 22 al 25 de septiembre de 2015.

**RESUMEN:** Una bomba básicamente es una máquina que transfiere energía mecánica a un fluido, para hacerlo fluir. Así, el corazón es una bomba que mueve la sangre a través del sistema circulatorio del organismo. Las paredes de las arterias tienen una considerable elasticidad y se expanden y contraen cada ciclo de bombeo. Cuando el

corazón se contrae, la presión sanguínea de las arterias aumenta, mientras que cuando se relaja, la presión sanguínea decrece. La presión máxima se denomina sistólica y la mínima diastólica. La presión sanguínea de una persona comprende la medición de la presión de la sangre sobre las paredes arteriales. Esto se hace en general con un esfigmógrafo. Se utiliza un puño inflable para interrumpir temporalmente el flujo sanguíneo. Lentamente se libera la presión del mango. Cuando la presión en el mango es ligeramente inferior a la presión sanguínea máxima, la sangre empieza a fluir a través de la arteria con cada latido de corazón, tan pronto como aparecen los latidos se mide la presión, que se informa como sistólica. A medida que se libera más aire del mango, la sangre fluye con más uniformidad, hasta que los latidos no se perciben, la presión en este punto es la presión diastólica. En el presente trabajo se analiza, a partir del principio de conservación de la energía, el papel de la gravedad en la circulación sanguínea de una persona en posición horizontal y para una persona erguida. Para ello se les tomó la presión a un grupo de jóvenes estudiantes por el método auscultatorio y con ayuda de tensiómetros digitales, en distintas situaciones, previo consentimiento informado. Los resultados obtenidos se tabularon y analizaron comparando los resultados obtenidos por los métodos manual y automático. La técnica manual se realizó colocando un esfigmomanómetro de mercurio en el brazo y auscultando el latido en la arteria interna del brazo con un fonendoscopio. El automático con un tensiómetro digital. Los resultados más confiables fueron los del método auscultatorio comparados con obtenidos mediante los tensiómetros digitales de muñeca. Teniendo en cuenta la energía potencial gravitatoria por unidad de volumen en la toma de la presión arterial, no resultan confiables los valores obtenidos de la toma de presión arterial de tensiómetros con los manguitos de muñeca, por lo que no son recomendables para el auto-control de la presión arterial.

---

**TÍTULO:** Study of antifungal activity in vegetable tissue extracts.

**AUTORES:** Bareiro S, Bertoluzzo M, Bertoluzzo S, Lanzoni S, Rojas C, Soares Bahiano S, Becchio V.

**LUGAR DE LA PUBLICACIÓN:** XXXIV Reunión Científica Anual de la Sociedad de Biología de Cuyo

**FECHA:** 1,2 y3 de Diciembre de 2016,

**RESUMEN:** Bioactive compounds of vegetable tissue are a natural source of fungicides. The aim of this paper is to describe in vitro antifungal activity of ethanol extracts of papaya leaves and perform identification tests flavonoids, which are responsible for the inhibition of fungal growth. Extraction of bioactive compounds was carried out by using ethanol under constant stirring. The presence of flavones, flavanols and flavanones by Shinoda test was analyzed; by adding a trace of magnesium and 1ml of concentrated HCl to 100 µl of extract. The presence of flavones and flavonols was evaluated by dissolving 100 µl of the extract in 1 ml 2M NaOH or H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1ml concentrated. Positive reactions were considered those that gave yellow solutions. The presence of flavonoids with a carbonyl group and a hydroxyl group in position 5 was determined by dissolving 100 µl of the extract in 1ml of concentrated H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and adding 2mg of boric acid. Positive reactions formed yellow complexes with yellow-green fluorescence. Flavonoids of vegetable tissue were extracted and purified by aqueous biphasic systems consisting of ammonium sulfate and ethanol. The phases were separated and the top phase was used to analyze the antifungal activity as this is the one containing most flavonoids. Fungi from decaying fruit were used, which were cultured



on potato dextrose agar for four to seven days at room temperature. Inhibition of mycelial growth was determined by cutting discs of 5mm diameter from the end of a colony of fungi and placing them in the center of a Petri dish with potato dextrose agar, containing aliquots of extract papaya leaves. The minimum amount to inhibit fungal growth was 400 microliters of extract 0.1 g/ml concentration. For 100, 200 and 300 microliters a delay in the growth of colonies was observed compared to the control.

---

**TÍTULO:** *A solid- and solution-phase-based library of beta-methyl substituted penicillin derivatives and their effects on growth inhibition of tumor cell lines*

**AUTORES:** Dora B. Boggián, Patricia G. Cornier, Ernesto G. Mata, Viviana C. Blank, Mariano G. Cárdenas and Leonor P. Roguin.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Medical Chemical Communications, Royal Society of Chemistry, Inglaterra.

**FECHA:** 08/01/2015

**RESUMEN:** We described the design, synthesis and antiproliferative properties of a series of twenty 2 $\beta$ -methyl substituted penicillin derivatives. This analysis includes evaluation against HeLa and MCF-7 human tumor cell lines and LM3 and B16-F0 murine tumor cell lines. The epithelial cell line derived from the normal mammary gland of mice (NMuMG) and the mouse embryo fibroblast cell line (3T3) were used as controls (non-cancer cells).

---

**TÍTULO:** The Triazolil Aminoacyl (Peptidyl) Penicillin TAP6 Inhibits Cellular Adhesion and Migration in a Metastatic Melanoma cell line.

**AUTORES:** Elizabeth Barrionuevo, Patricia G. Cornier, Carina M. L. Delpiccolo, Dora B. Boggián, Ernesto G. Mata, Leonor P. Roguin, Viviana Blank.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Medicina, Vol. 76, Suplemento 1. Buenos Aires Argentina.

**FECHA:** 15/11/2016

---

**RESUMEN:** Se demostró que los compuestos sintetizados por nuestro grupo: Triazolil Aminoacil (Peptidil) Penicilina, inhiben la migración celular en una metástasis de una línea celular de melanoma.

**TÍTULO:** Translational Medicine: *Preclinical Development and Optimization of new Antitumor Agents.*

**AUTORES:** María Virginia Giolito, Patricia Cornier, Carina Delpiccolo, Dora Boggián, Mauricio Menacho Márquez, Leandro Ernesto Mainetti, Graciela Scharovsy, Ernesto Mata, Viviana Rosa Rozados.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Mar del Plata, Argentina.

**FECHA:** 16/11/2016

**RESUMEN:** El desarrollo de nuevos agentes antitumorales es, en el presente, una demanda para la salud mundial, debido a los efectos secundarios demostrados de las drogas antineoplásicas conocidas, el desarrollo de resistencia y también a la falta de una droga efectiva para ciertos tipos de cáncer y para el tratamiento de las metástasis. El

propósito de este estudio es la evaluación de la actividad antitumoral de los compuestos Aminoacil/peptidil-penicilinas y su mecanismo de acción.

---

**TÍTULO:** *Diseño y síntesis de nuevos 1,2,4-oxadiazil-aminoácidos enfocado al estudio de la actividad antiproliferativa.*

**AUTORES:** Camacho, Cristian; Mata, Ernesto G.; Boggian, Dora B.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** XX Simposio Nacional de Química Orgánica, Mar del Plata, Argentina.

**FECHA:** 11/11/2015

**RESUMEN:** Basados en la estrategia de hibridación molecular, se sintetizaron bibliotecas de compuestos con potencial interés biológicos. Para ello se llevó a cabo la conjugación de una función aminoacídica y un grupo arilo unidos por un anillo 1,2,4 oxadiazólicos.

---

**TÍTULO:** *Acción Antitumoral in vitro e in vivo de un nuevo Derivado Sintético de Penicilina.*

**AUTORES:** Yanina Bellizzi; Patricia Cornier; Carina Delpiccolo; Dora Boggian; Ernesto Mata; Leonor Roguin.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Medicina, Buenos Aires, Vol. 75 Supl. II – 2015.

**FECHA:** 18/11/2015

**RESUMEN:** Las triazolil Aminoacil Penicilinas (TAP) son nuevos compuestos híbridos formados por una porción penicilánica unida a una porción peptídica a travez de un anillo de triazol. El compuesto denominado TAP6 presenta una acción antiproliferativa 30 veces más potente en una línea de B16-FO (melanoma murino).

---

**TÍTULO:** *In Vitro Antitumor Properties of a Triazolyl Aminoacyl (Peptidyl) Penicillin in Murine melanoma Cells.*

**AUTORES:** Yanina Bellizzi, Leonor Roguin, Viviana Blank, Patricia G. Cornier, Carina M. L. Delpiccolo, Dora B. Boggian, Ernesto G. Mata, Osvaldo Rey.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Medicina, Vol. 76, Suplemento 1. 2016.

**FECHA:** 15/11/2016

---

**RESUMEN:** Las triazolil Aminoacil Penicilinas (TAP) son nuevos compuestos híbridos formados por una porción penicilánica unida a una porción peptídica a tra vez de un anillo de triazol. El compuesto denominado TAP6 presenta una acción antiproliferativa 30 veces más potente en una línea de HeLa (adenocarcinoma de cuello de útero) y B16-FO (melanoma murino).

**TÍTULO:** *Optimización de la síntesis de Triazolilaminoacilpenicilinas y análogos a la escala de gramos. Actividad antitumoral in vivo contra adenocarcinoma mamario murino.*

**AUTORES:** Cornier, P.; Delpiccolo, C.; Boggian, D.; Mata, E.; Giolito, M.; Del Giudice, A.; Scharovsky, O. ; Rico, M.2, Rozados, V.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** 4ta Reunión Internacional de Ciencias Farmacéuticas (RICiFa) Rosario, Argentina.

**FECHA:** 27 y 28 Octubre de 2016

**RESUMEN:** A partir de una biblioteca de triazolilaminoacilpenicilinas obtenidas mediante síntesis en fase sólida, detectamos compuesto con una destacable actividad antiproliferativa *in vitro*. Ante la necesidad de llevar estudios *in vivo* se llevó a cabo el escalado del proceso. Para ello fue necesario desarrollar un nuevo proceso de síntesis de estos compuestos que permitiera la obtención de los mismos a la escala de gramos. Una vez obtenidos a mayor escala los compuestos seleccionados, se llevaron a cabo los primeros estudios *in vivo* para la evaluación de actividad antitumoral de los mismos, obteniéndose resultados prometedores.

---

**TÍTULO:** “Heat treatment of calcium alginate films obtained by ultrasonic atomizing: physicochemical characterization”.

**AUTORES:** Marina Soazo, Germán Báez, Andrea Barboza, Pablo A. Busti, Amelia Rubiolo, Roxana Verdini, Néstor J. Delorenzi

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** *Food Hydrocolloids*

**FECHA:** 2015

**RESUMEN:** Planar films of calcium alginate were obtained using an ultrasonic atomizing device. Sodium alginate solutions of 0.6% and 0.9% (w/v) were nebulized with calcium gluconolactate solutions (gelling agent) of 0, 1, 2 and 3% (w/v) at a flow rate of 0.3 mL min<sup>-1</sup> for 20 min. After drying, thickness and mechanical properties were determined. In view of the results of mechanical properties, manageability and flexibility, calcium alginate films obtained using 0.9% sodium alginate and 2% calcium gluconolactate were selected as “optimum dry film” samples. These samples were cut into rectangular pieces and heated at 180 °C for 0, 4, 8, 12, 20 and 24 min. Thickness, mechanical and optical properties, differential scanning calorimetry (DSC) thermograms, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra, and scanning electron microscopy (SEM) micrographs were analyzed in order to characterize the physicochemical properties of heat-treated samples. The heat treatment produced thickness reduction, a yellow ochre color development and an increase in the brittleness of the films. DSC, FTIR and SEM studies suggested that heat treatment produced further dehydration of dry films and thermal dehydration degradation of alginate macromolecules.

---

**TÍTULO:** Determination of reducing sugars in foodstuff applying multivariate second-order calibration.

**AUTORES:** Julia Aimó; Ezequiel Promancio; Patricia C Damiani

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Analytical Methods.8 (2016) 4617-4631. con referato

**FECHA:** 2016.....

**RESUMEN:**

In the present report, a chemometrics-assisted second-order kinetic-spectrophotometric method has been developed for determining reducing sugars, glucose, fructose and lactose, in food samples, based on the reaction with hexacyanoferrate, HCF, at 70 °C in alkaline medium. A suitable experimental design helped us to establish the conditions

(pH, temperature, and HCF concentration) for optimal sensitivity and selectivity among analytes. Second order data were recorded by measuring the absorbance of unreacted HCF in the spectral range of 370 to 470 nm for five minutes using a diode array. A calibration set of samples was prepared according to a central composite design containing the three sugars for training the algorithms. Validation samples containing only the analytes were prepared for checking the reliability of the algorithms. In this particular system, identical profiles for sample components are obtained in the spectral dimension corresponding to unreacted HCF. Moreover, two kinds of interferents may be present: sample components active in the spectral region at which HCF absorbs as well as

potential reducing interferents, causing linear dependence, since they provide identical profiles in spectral dimension to those of the analytes of interest. In the present work, MCR-ALS in the spectral augmentation mode was the only algorithm that could successfully resolve linear dependence. Satisfactory results were obtained by applying MCR-ALS in the spectral augmentation mode in order to achieve a second order advantage for the determination of fructose and glucose in validation samples, in test samples containing the two kinds of interferents and in real food samples, providing LODs of 4.0 and 5.0 mg L<sup>-1</sup>, respectively. However, bad results were obtained for lactose which may be due to its

low sensitivity in the augmented dimension. Good results were also obtained by applying U-PLS/RBL and N-PLS/RBL for determining simultaneously the three sugars in validation samples and in test samples containing only active spectral interferents. Finally, lactose and also, glucose and fructose, were successfully quantified in real milk samples, with LOD<sub>min</sub> ¼ 1.0 mg L<sup>-1</sup>, 1.0 mg L<sup>-1</sup> and 0.1 mg L<sup>-1</sup> and LOD<sub>max</sub> ¼ 3.5, 3.8 and 4.4 mg L<sup>-1</sup>, respectively, using UPLS/RBL, and LOD<sub>min</sub> of 1.3, 1.1 and 0.1 mg L<sup>-1</sup> and LOD<sub>max</sub> of 4.0, 4.3 and 4.9 mg L<sup>-1</sup> for lactose, glucose and fructose, respectively, for NPLS/RBL.

Results for real samples in all cases were statistically comparable to those obtained by applying a reference method based on HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

: *Anal. Methods*, 2016, 8, 4617

---

**TÍTULO:** La calibración multivariada de tres vías aplicada al monitoreo de drogas terapéuticas

**AUTORES:** Cabezón, M; Promancio, E; Damiani, P<sup>1</sup>

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Acta del 8 Congreso de Química Analítica. La Plata Bs As

**FECHA:** 03/11/2015

**RESUMEN:** Este trabajo propone la aplicación de la calibración multivariada de tres vías para la determinación de la concentración de drogas terapéuticas en fluidos biológicos con el objeto de ajustar la dosis optimizando la relación riesgo-beneficio. Los líquidos biológicos son muestras complejas que presentan otros componentes que pueden interferir en la determinación de los analitos. La calibración multivariada de orden superior trae aparejada la llamada “ventaja de segundo orden” que permite la determinación de los analitos, aún en presencia de interferentes. Los datos de orden superior garantizan además una mejor sensibilidad y selectividad [1].

Las drogas estudiadas fueron atenolol, beta- bloqueante cardioselectivo usado entre otras cosas en cuadros de arritmias y considerado “dopping” en el deporte de tiro; y levodopa con su coadyuvante carbidopa aplicados en el tratamiento de Parkinson [2,3]. El atenolol presenta fluorescencia nativa y se determinó en orina por espectroscopía de fluorescencia, obteniéndose datos de segundo orden al registrar matrices de emisión - excitación fluorescentes. En el caso de la levodopa y carbidopa se obtuvieron datos de segundo orden cinéticos - espectroscópicos en suero midiéndose la absorbancia del producto de reacción con neocuproína entre 350-500 nm durante 500 segundos. En el caso del atenolol, la orina mostró interferentes que presentan efecto de filtro interno. En el caso de las muestras de suero para determinar levodopa y carbidopa se observaron interferentes que dan una importante señal de base intensamente solapada con la del analito. Para resolver estos problemas, además de usar la ventaja de segundo orden, el caso de la orina se calibró en presencia de la muestra, mientras que en el suero se aplicó la técnica de adición de standard.

En ambos dos casos se obtuvieron resultados satisfactorios aplicando los algoritmos de variables latentes: cuadrados mínimos multilineales: U-PLS y N-PLS combinados con Bilinealización residual (RBL) para acopiar la “ventaja de segundo orden” [1].

---

**TÍTULO:** TRABAJO PRÁCTICO INTERCÁTEDRAS. La Estadística aplicada a la Química Analítica Cuantitativa

**AUTORES:** Ruiz, L<sup>1</sup> ; Milani, M.L<sup>1</sup> ; Damiani, P<sup>1,2\*</sup>

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Acta del 8 Congreso de la Asociación Argentina de Química Analítica. La Plata BsAs

**FECHA:** 03/11/2015

**RESUMEN:** La Química Analítica está estrechamente relacionada con la Estadística, hecho fundamentado por una amplia literatura basada en la “estadística para químicos analíticos” [1,2].

En la carrera de Licenciatura en Química Industrial de la Facultad de Ingeniería Química “Fray Rogelio Bacon”, UCA, Rosario, los alumnos de tercer año cursan Química Analítica Cuantitativa y Quimiometría. Aprovechando esta situación particular, se puso en práctica la relación entre ambas disciplinas tratando que los alumnos apliquen los conocimientos adquiridos en Quimiometría para analizar los datos obtenidos en los laboratorios de Química Analítica. Para tal fin los alumnos trabajan en grupos y cada grupo determina por triplicado la concentración de cloruros en una muestra de sal de mesa aplicando dos métodos volumétricos argentométricos: el método de Mohr y el método de Volhard [3]. La concentración de cloruros se expresa en mg/L(ppm) de NaCl

El análisis estadístico de los datos implica: 1) Construir intervalos de confianza del 95% para expresar los resultados de cada método  $\bar{x} \pm t(s/\sqrt{n})$ . 2) Estimar la precisión intra e inter ensayo (repetibilidad y reproducibilidad) calculando los desvíos standards relativos correspondientes según:  $CV = s/\bar{x} * 100$ . 3) Aplicar las pruebas estadísticas de hipótesis: F de Snedecor, para analizar las variancias y t de Student, para comparar las medias, a los resultados obtenidos por cada uno de los grupos mediante los métodos de Mohr y Volhard [1,4]. Se toma como resultados aceptados, o referenciales,

los obtenidos mediante el método de Mohr por estar basado en una titulación directa.. Finalmente los alumnos realizarán los comentarios pertinentes respecto de la precisión y exactitud de los métodos estudiados, concluyendo si los resultados son estadísticamente comparables.

---

**TÍTULO:** “Heat treatment of calcium alginate films obtained by ultrasonic atomizing: physicochemical characterization”.

**AUTORES:** Marina Soazo, Germán Báez, Andrea Barboza, Pablo A. Busti, Amelia Rubiolo, Roxana Verdini, Néstor J. Delorenzi

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** *Food Hydrocolloids*

**FECHA:** 2015

**RESUMEN:** Planar films of calcium alginate were obtained using an ultrasonic atomizing device. Sodium alginate solutions of 0.6% and 0.9% (w/v) were nebulized with calcium gluconolactate solutions (gelling agent) of 0, 1, 2 and 3% (w/v) at a flow rate of 0.3 mL min<sup>-1</sup> for 20 min. After drying, thickness and mechanical properties were determined. In view of the results of mechanical properties, manageability and flexibility, calcium alginate films obtained using 0.9% sodium alginate and 2% calcium gluconolactate were selected as “optimum dry film” samples. These samples were cut into rectangular pieces and heated at 180 °C for 0, 4, 8, 12, 20 and 24 min. Thickness, mechanical and optical properties, differential scanning calorimetry (DSC) thermograms, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra, and scanning electron microscopy (SEM) micrographs were analyzed in order to characterize the physicochemical properties of heat-treated samples. The heat treatment produced thickness reduction, a yellow ochre color development and an increase in the brittleness of the films. DSC, FTIR and SEM studies suggested that heat treatment produced further dehydration of dry films and thermal dehydration degradation of alginate macromolecules.

---

**TÍTULO:** “Effect of different combinations of glycerol and/or trehalose on physical and structural properties of whey protein concentrate-based edible films”

**AUTORES:** L.M. Pérez, G.N. Piccirilli, N.J. Delorenzi, R.A. Verdini

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** *Food Hydrocolloids*

**FECHA:** 2016

**RESUMEN:** The aim of the present study was to develop and characterize edible films produced from whey protein concentrate (WPC) and plasticized with different contents of glycerol (Gly) and/or trehalose (Tre) in order to evaluate new edible film formulations for their potential use in food packaging applications. Additionally, potential changes in the film mechanical properties during storage at ambient and freezing conditions were considered. Moisture content, solubility, thickness, transparency, microstructure, colour parameters, and mechanical properties were assessed. The films incorporated with Tre were more insoluble in water than WPC/Gly films, being more suitable for food applications. WPC/Gly and WPC/Tre films were clear enough to be used as see-through packaging. However, when Tre was included into WPC/Gly film formulations, film opacity increased. Scanning electron microscope (SEM) images suggested that this

phenomenon may be related to the growth of Tre crystals in the film matrix. Moreover, when Tre concentration increased in the WPC/Gly matrix, film surface was more heterogeneous. Interestingly, the presence of Tre in WPC-based films was effective in preventing Maillard reaction after heating. WPC/Tre films were the most rigid but the least stable for storage, resulting more susceptible to rupture and cracking. Only WPC/Gly and WPC/Gly-Tre 8% films were rather flexible, manageable, and stable up to 90 days of storage under ambient and freezing conditions. These findings can be used to better design applications of edible films containing plasticizers that may crystallize over time in order to optimize film formulation in a rational manner towards their eventual application as food packaging.

---

**TÍTULO:** “Antimicrobial and physicochemical characterization of whey protein concentrate edible films incorporated with liquid smoke”

**AUTORES:** M. Soazo, L.M. Pérez, G.N. Piccirilli, N.J. Delorenzi, R.A. Verdini

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** *LWT – Food Science and Technology*

**FECHA:** 2016

**RESUMEN:** The incorporation of commercial liquid smoke (LS) to edible films was investigated for the first time. The objective of this investigation was to characterize whey protein concentrate (WPC)-based edible films incorporated with LS. According to the bactericidal activity of LS against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in liquid medium, WPC-based films incorporated with 0, 5, 10, and 15% (v/v) LS were prepared. Inhibition zone in solid media, thickness, transparency, color and mechanical properties of the films were analyzed. Films including LS were effective to prevent growth of *L. monocytogenes* in the agar diffusion test. Analyzing color parameters, the incorporation of LS into films caused a decrease in  $L^*$  and an increase in both  $a^*$  and  $b^*$ . However, these sensory changes were not detrimental for their potential use in food applications. Noticeably, tensile strength and elongation tend to increase when LS was added into films formulation. Depending on its content, different protein-LS interactions could be generated, positively affecting the mechanical properties of films. In conclusion, WPC-based edible films incorporated with LS may be suitable for being applied to food surfaces and useful to prevent the superficial growth of the globally recognized high-risk foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*

DEL PROYECTO CICUNR

---

**TÍTULO:** “MICROMORFOLOGÍA DEL LEÑO DE *Phyllanthus sellowianus* (KLOTZSCH) MÜLL. ARG. (PHYLLANTACEAE)”

**AUTORES:** Di Sapio O. – G. Bettucci – E. Mandón - A. Cortadi

**PUBLICACIÓN:** IX Jornadas de Ciencia y Tecnología – Divulgación de la Producción Científica y Tecnológica de la UNR – Secretaría de Ciencia y Tecnología, UNR. Foro Permanente de Discusión de Ciencia y Tecnología – UNR Editora – Pp. 109 – 116. Argentina – 2016. ISBN n° 978-987-702-187-5

---

**TÍTULO:** “FARMOPLANTAS: *Castela coccínea* Griseb.”

**AUTORES:** Campagna M.N. – M. Ferretti – O. Di Sapiro – M.L. Martínez  
**PUBLICACIÓN:** Bifase Vol. 28 n° 2. Pp. 65 – 70. Buenos Aires, Argentina – Mayo 2015.  
ISSN n° 1515-5560

---

**TÍTULO:** “IDENTIFICACIÓN DE MICROESTRUCTURAS Y ANÁLISIS ARQUEOBOTÁNICO EN SITIOS DEL HOLOCENO TARDÍO DE LA LLANURA ALUVIAL DEL PARANÁ MEDIO”

**AUTORES:** - Cornero S. – L. Rangone - O. Di Sapiro

**PUBLICACIÓN:** Dominguezia 31(1): 15 - 21. Buenos Aires, Argentina – Junio 2015.  
ISSN n° 1669-6859

---

**AUTORES:** Campagna M. N. –M. Gattuso - M. L. Martínez – M. V. Rodriguez – O. Di Sapiro

**TÍTULO:** “NOVEL MICROMORPHOLOGICAL FEATURES OF WOOD AND BARK OF ARGENTINEAN SIMAROUBACEAE”

**PUBLICACIÓN:** New Zealand Journal of Botany - Vol. 54 (Issue 3)

DOI: 10.1080/0028825X.2016.1250784 New Zealand – Published online: 16 Nov 2016.  
Online ISSN: 1175-8643

---

**TÍTULO:** “CARACTERES MORFOANATÓMICOS E HISTOQUÍMICOS DE *TABERNAEMONTANA CATHARINENSIS* A. DC. (APOCYNACEAE)”

**AUTORES:** Mandón E. - O. Di Sapiro – G. Bettucci – A. Cortadi

**PUBLICACIÓN:** Boletín de Soc. Arg. de Botánica – Vol. 50 (Supl.), pág. 76 – Setiembre 2015

ISSN: 0373-580X – Córdoba, Argentina.

---

**TÍTULO:** “CARACTERIZACIÓN MORFOANATÓMICA DE *FUNASTRUM CLAUSUM* (JACQ.) SCHLECHT. (APOCYNACEAE), FUENTE NATURAL DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS”

**AUTORES:** Bettucci G. – O. Di Sapiro – E. Mandón – X. Rodriguez – A. Cortadi

**PUBLICACIÓN:** XVII Congreso y XXXV Reunion Anual de Sociedad Biología Rosario –

Pág. 131. Rosario, Santa Fe, Argentina - Diciembre 2015 - ISSN: 2314-1484

---



**TÍTULO:** “MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF *Funastrum clausum* (Jacq.) Schlecht. (APOCYNACEAE), NATURAL SOURCE OF PROTEOLYTIC ENZYMES”

**AUTORES:** Di Sapio O. – G. Bettucci – E. Mandón – A. Cortadi

**PUBLICACIÓN:** Biocell Vol. 39 (Suppl. n° 4) (Abstract n° A14) – Mendoza, Argentina, 2015.

ISSN (print): 0327-9545, (electronic): 1667-5746

---

**TÍTULO:** “MORFOANATOMÍA DE *Sapium haematospermum* Müll. Arg. (Hippomaneae – Euphorbiaceae) Y ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE SU LÁTEX; UTILIZADO EN MEDICINA POPULAR”

**AUTORES:** Mandón E. - G. Bettucci – O. Di Sapio – A. Cortadi

**PUBLICACIÓN:** *Dominguezia* Vol. 32(2): 79-80 Dic 2016 ISSN: 1669-6859

---

**TÍTULO:** “ACTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE *BACCHARIS SPICATA* CONTRA *SITOPHILUS ORYZAE*”

**AUTORES:** Rodríguez M. V. – M. Ferretti - M. N. Campagna - O. Di Sapio –M. L. Martínez

**PUBLICACIÓN:** Boletín de Soc. Arg. de Botánica – Vol. 50 (Supl.), pág. 192 – Setiembre 2015

ISSN: 0373-580X – Córdoba, Argentina.

---

**TÍTULO:** “AVANCES EN EL ESTUDIO DE LA FLORA VASCULAR DE LA PROVINCIA DE SANTA FE (ARGENTINA)”

**AUTORES:** Oakley L. – V. Cerantola – D. Chamorro – O. Di Sapio – C. Gaetani – L. Galetti – E. López – H. Maturo – D. Palou – E. Pedrero – M. Tion – F. Varas – D. Prado

**PUBLICACIÓN:** Boletín de Soc. Arg. de Botánica – Vol. 50 (Supl.), pág. 211 – Setiembre 2015

ISSN: 0373-580X – Córdoba, Argentina.

---

**TÍTULO:** “FLORA VASCULAR DE LA PROVINCIA DE SANTA FE: *OLEACEAE*”

**AUTORES:** Di Sapio O. – L. Galetti - L. Oakley – D. E. Prado

**PUBLICACIÓN:** XVII Congreso y XXXV Reunion Anual de Sociedad Biología Rosario – Pág.

26. Rosario, Santa Fe, Argentina - Diciembre 2015. ISSN: 2314-1484

---

**TÍTULO:** “CARACTERIZACIÓN DEL LEÑO DE *PHYLLANTHUS SELLOWIANUS* Y HOJA DE *BAUHINIA FORFICATA*. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE SUS EXTRACTOS ACUOSOS”

**AUTORES:** Buszniez P. – O. Di Sapio – H. Mascaro Grosso – M. Delannoy – M. D'arrigo – B. Riquelme

**TÍTULO:** “FLORA OF THE PROVINCE OF SANTA FE (ARGENTINA): THE FAMILY *OLEACEAE*”

**AUTORES:** Di Sapio O. – Galetti L. - Oakley L. – Prado D. E.

**PUBLICACIÓN:** Biocell Vol. 39 (Suppl. n° 4) (Abstract n° A12) – Mendoza, Argentina, 2015.

ISSN (print): 0327-9545, (electronic): 1667-5746

---

**TÍTULO:** CARACTERES MORFOANATÓMICOS E HISTOQUÍMICOS DE *TABERNAEMONTANA CATHARINENSIS* A. DC. (APOCYNACEAE).

**AUTORES:** Mandón E., Di Sapio O., Bettucci G., Cortadi A.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Boletín de Soc. Arg. de Botanica – Vol. 50 (Supl.), pág. 76

**FECHA:** Setiembre 2015

**RESUMEN:** *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Apocynaceae), nombre vulgar “Palo víbora”, es un árbol con látex que habita la selva riparia de los ríos Uruguay y Paraná. Las referencias sobre su uso popular en el nordeste de Argentina mencionan su utilización en desinfección de heridas, mordedura de víboras, dolor de muelas, afecciones de garganta, diarreas e infecciones por parásitos. El objetivo del presente trabajo fue determinar caracteres morfológicos, anatómicos e histoquímicos de valor diagnóstico, que permitan la correcta identificación de la especie al estado de droga cruda. Se trabajó con material fresco, fijado en FAA y de herbario; los cortes y diafanizados se colorearon con Safranina fast green y violeta de cresylo. Presenta hojas simples, opuestas, elípticas a lanceoladas, glabras y cortamente pecioladas. Flores blancas en inflorescencias cimosas; fruto folículo. Entre los caracteres anatómicos se mencionan: hoja dorsiventral, anfiestomática, con estomas paracíticos y anomocíticos, con venación última marginal incompleta. Tallo primario en típica eustela. Tallo secundario con escaso súber y braquiesclereidas aisladas en parénquima cortical y medular. Miembros de vasos medianos con placa perforada simple. Fibras septadas. Leño constituido por poros solitarios y múltiples cortos y largos; parénquima paratraqueal y radios bi y triseriados. Dieron positivo las siguientes reacciones histoquímicas: taninos, alcaloides, almidón, lípidos, mucílagos y proteínas.

---

**TÍTULO:** CARACTERIZACIÓN MORFOANATÓMICA DE *Funastrum clausum* (Jacq.) Schlecht. (Apocynaceae), FUENTE NATURAL DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

**AUTORES:** Bettucci, G.<sup>1</sup>, Di Sapio, O.<sup>1,2</sup>; Mandón, E.<sup>1</sup>, Rodriguez, X.<sup>3</sup>, Cortadi, A.<sup>1</sup>

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Libro Resúmenes XVII Congreso y XXXV Reunion Anual de Sociedad Biología Rosario – Pág. 131. Rosario, Santa Fe, Argentina

**FECHA:** Diciembre 2015

**RESUMEN:** *Funastrum clausum* (Jacq.) Schlecht., es una de las tres especies descritas para el género *Funastrum* (Apocynaceae, Subfamilia Asclepiadoideae) para la Argentina. Es una planta nativa, voluble que crece espontáneamente en las riberas de ríos y arroyos del norte y nordeste argentino, y cuyo látex blanco es fuente natural de enzimas proteolíticas. El objetivo del presente trabajo es realizar un estudio morfoanatómico de los órganos aéreos de *Funastrum clausum* (Jacq.) Schlecht. (Apocynaceae) a fin de contribuir a la correcta identificación botánica de la especie. Se trabajó con material fresco, fijado en FAA (alcohol etílico 96°, agua, formol y ac. acético, 50:35:10:5) e incluido en parafina. Se realizaron secciones transversales y paradermales de hoja, pecíolo y tallo con micrótopo de deslizamiento. Se efectuaron diafanizados y macerados según técnicas convencionales. Las coloraciones empleadas fueron Safranina-Fast-green y Violeta de Cresylo. Los resultados del presente trabajo muestran que *Funastrum clausum* es un sufrútice voluble de tallos glabros, algo pubescente en entrenudos apicales o en los nudos foliares. Las hojas son opuestas, oblongas, elípticas u ovadas con apículo bien desarrollado y base obtusa; presentan glándulas sobre la base del nervio central en la cara adaxial, que es glabrescente. Los pecíolos son pubescentes. La lámina es anfiestomática y el mesófilo dorsiventral. Se observa una epidermis unistrata con cutícula gruesa, estriada y estomas de tipo rubiáceos. El pecíolo en sección transversal es cóncavo-convexo con escasos pelos simples. El tallo primario posee hipodermis y parénquima en empalizada; haces colaterales abiertos con floema intraxilar y casquetes de fibras gelatinosas perifloemáticas. El tallo secundario origina súber estratificado y desigual desarrollo del xilema en las zonas de torsión del mismo. Los radios que se observan son uni y biseriados. Los laticíferos son no articulados ramificados y se localizan a nivel del tejido parenquimático de los diversos órganos. Se presentarán fotomicrografías, esquemas y cuadro de caracteres morfoanatómicos.

---

**TÍTULO:** MORFOANATOMÍA DE *SAPIUM HAEMATOSPERMUM* MÜLL. ARG.

(HIPPOMANEAE-EUPHORBIACEAE) Y ANALISIS FITOQUIMICO DE SU LÁTEX; UTILIZADO EN MEDICINA POPULAR

**AUTORES:** Mandón É.; Bettucci G., Di Sapio O., Cortadi A.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** *Dominguezia* Vol. 32(2): 79-80

**FECHA:** Diciembre 2016

**RESUMEN:** *Sapium haemospermum* Müll Arg., es un árbol monoico, latexcente de corteza blanquecina, vulgarmente conocido como *curupí* o *lecherón*; se encuentra frecuentemente en las regiones subtropicales de América austral. Además de nuestro país, habita el sur de Bolivia, Paraguay, Brasil y Uruguay; en general crece asociado a los cursos de agua. Es una especie muy polimorfa en lo que se refiere a las hojas e inflorescencia, presenta formas extremas incluso dentro de una misma población, con caracteres opuestos hasta en un mismo individuo<sup>1</sup>. En medicina popular, su látex es utilizado como antiodontálgico debido a sus propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias y para quitar verrugas. Los estudios anatómicos muestran hojas con estructura isobilateral, parénquima en empalizada formado por dos capas de células, anfiestomática con estomas de tipo rubiáceos. La anatomía del cuerpo axial responde a la estructura de Dicotiledónea típica, tallo primario con eustela y casquetes de fibras perifloemáticas; en la estructuración secundaria la corteza externa presenta escasas capas de súber, el leño es de porosidad difusa con vasos poco numerosos, con radios uni y biseriados de tipo heterocelular. En todos los órganos en estudio, se observaron laticíferos no articulados ramificados, cuyas iniciales están ya diferenciadas en el embrión y crecen de manera concomitante con la planta dando un sistema ramificado que atraviesa todo el cuerpo de la misma. Los índices de Vulnerabilidad y Mesomorfismo obtenidos indican que *Sapium haemospermum* Müll Arg. es una especie sensible al estrés hídrico y su madera es de tipo mesomórfica. Las semillas son biconvexas, totalmente cubierta por arilo color rojo sangre y con endosperma oleoso. En el látex puro se pudieron detectar granos de almidón tipo barra, compuestos terpenoides y enzimas. El contenido de proteínas totales fue de 14mg/mL; mediante un análisis electroforético se distinguieron cuatro bandas mayoritarias de peso molecular aparente de 97, 66, 45 y 40 KDa y en geles poliacrilamida/gelatina se evidenció actividad peptidásica que también se determinó con azocaseína como sustrato no específico (valor estimado: 0,670 Uazo/mg). Asimismo se evaluó la actividad glicosidasa del látex obteniéndose actividad mayoritaria de dos enzimas: manosidasa y NAcglucosaminidasa. Los resultados obtenidos en el presente trabajo constituyen un aporte para la determinación del género *Sapium* y la validación del uso vernáculo de la especie.

---

**TÍTULO:** CARACTERIZACIÓN DEL LEÑO DE *Phyllanthus sellowianus* y HOJA DE *Bauhinia forficata*. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE SUS EXTRACTOS ACUOSOS

**AUTORES:** Buszniez, Patricia; Di Sapio, Osvaldo; Mascaro Grosso, Hermano; Delannoy, Marcela; D'Arrigo, Mabel; Riquelme, Bibiana

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Libro Resúmenes XVII Congreso y XXXV Reunion Anual de Sociedad Biología Rosario – Pág. 13. Rosario, Santa Fe, Argentina

**FECHA:** Diciembre 2015

**RESUMEN:** Las especies autóctonas *Phyllanthus sellowianus* Müll. Arg., “Sarandí Blanco” (Ps) y *Bauhinia forficata* Link subsp. *pruinosa* (Vog.) Fortun. et Wund., “Pezuña de Vaca” (Bf), son ambas utilizadas tradicionalmente en nuestro país para el tratamiento de la Diabetes. Las partes habitualmente utilizadas en fitomedicina, son el leño (L) de Ps y las hojas (H) de Bf, cuyas caracterizaciones exomorfológica y endomorfológica fueron realizadas con microscopio óptico. El análisis macroscópico muestra en sección transversal un leño de Ps de color pardo amarillento, con anillos de crecimiento, delimitados en parte por la presencia de fibras libriformes comprimidas del leño tardío. Los vasos poseen forma circular a ligeramente ovalada, la pared secundaria está adelgazada y el diámetro es variable. Las fibras xilares libriformes del tejido mecánico son fusiformes, septadas, con paredes moderadamente engrosadas, de

disposición no estratificada y puntuaciones simples oblicuas a laxamente rebordeadas, alternas. Se distinguen grupos no uniformes de fibras gelatinosas. Los radios leñosos son heterocelulares. Las hojas de Bf en sección transversal presenta lámina foliar, ambas epidermis unistratas, la adaxial con células rectangulares, la abaxial con células papilosas; mesófilo homogéneo formado por 4-5 estratos de parénquima en empalizada, continuo y con espacios intercelulares. Para la caracterización fisicoquímica de sus extractos acuosos se prepararon soluciones extractivas utilizando diferentes procedimientos: Cocimiento (CL y CH), Digestión Controlada (DL y DH), Infusión (IL y IH) y Maceración (ML y MH) en solución fisiológica. Se obtuvieron soluciones de L de Ps color ambar y el CL mostró la presencia abundante de espuma. En cambio, las soluciones de H de Bf eran de color amarillento y la espuma presentada fue leve. Las reacciones cualitativas colorimétricas resultaron positivas para Bf con reactivo  $\text{FeCl}_3$ . En las soluciones extractivas se determinaron el pH (pHmetro Hanna Instruments HI 83141), viscosidad (Viscosímetro Brookfield), la densidad (picnometría), la absorbancia (Fotómetro Andali Digital) y el índice de refracción (Refractómetro de Abbe), cuyos resultados se muestran a continuación:

Extrac to	<i>Phyllanthus sellowianus</i>				<i>Bauhinia forficata</i>			
	ML	IL	DL	CL	MH	IH	DH	CH
pH	4,66±0, 01	5,54±0, 01	5,31±0, 01	6,10±0, 01	6,58±0, 01	6,26±0, 01	6,08±0, 01	6,15±0, 01
□ g/cm <sup>3</sup>	1,04±0, 04	1,02±0, 04	1,04±0, 04	1,02±0, 04	1,02±0, 02	1,02±0, 02	1,02±0, 02	1,02±0, 02
η cp	0,97±0, 02	1,04±0, 02	1,53±0, 02	0,98±0, 02	0,77±0, 01	0,77±0, 01	0,75±0, 01	0,76±0, 01

La absorbancia tanto a 405nm como a 640nm, resultó ser menor en todos los extractos de L de Ps y para el extracto de DH, alcanzando el mayor valor para MH a 640nm. Los valores del índice de refracción obtenidos son levemente superiores al del agua y dependen del método extractivo, siendo el mayor valor para ML. Estos datos contribuirán con estudios futuros sobre los mecanismos de acción por los cuales los extractos de estas especies o sus componentes químicos pueden ser utilizados como antidiabéticos en fitomedicina.

**TÍTULO:** Production of alpha-amylase from *Aspergillus oryzae* for several industrial applications in a single step

**AUTORES:** María C. Porfirif, Esteban J. Milatich, Beatriz M. Farruggia, Diana Romanini

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Journal of Chromatography B, 1022 (2016) 87–92  
ELSEVIER-

**FECHA:** 8 April 2016.

**RESUMEN:** A one-step method as a strategy of alpha-amylase concentration and purification was developed in this work. This methodology requires the use of a very low concentration of biodegradable polyelectrolyte (Eudragit® E-PO) and represents a low cost, fast, easy to scale up and non-polluting technology. Besides, this methodology allows recycling the polymer after precipitation. The formation of reversible soluble/insoluble complexes between alpha-amylase and the polymer Eudragit® E-PO was studied, and their precipitation in selected conditions was applied with bioseparation purposes. Turbidimetric assays allowed to determine the pH range where the complexes

are insoluble (4.50-7.00); pH 5.50 yielded the highest turbidity of the system. The presence of NaCl (0.05 M) in the medium totally dissociates the protein-polymer complexes. When the adequate concentration of polymer was added under these conditions to a liquid culture of *Aspergillus oryzae*, purification factors of alpha-amylase up to 7.43 and recoveries of 88% were obtained in a simple step without previous clarification. These results demonstrate that this methodology is suitable for the concentration and production of alpha-amylase from this source and could be applied at the beginning of downstream processing. © 2016 Elsevier B.V. All rights reserved

---

**TÍTULO:** Xylanase production by solid-state fermentation and study of separation with flexible polymers chains

**AUTORES:** Ricardo Gómez-García 1,\* , Miguel A. Medina 1, Beatriz Farruggia 2, Guillermo Pico2, Cristóbal N. Aguilar

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** New Biotechnology. Volume 33, Number 3 ·

ELSEVIER-

**FECHA:** May 2016.

**RESUMEN:** Xylanase is a key biocatalyst for several modern bioprocesses. It is required in large amounts and regularly it requires to be induced with xylan. Corn cob can be considered as an important source of xylan, for this reason the use of such agroindustrial residue can be an attractive alternative if it is used as support and nutrient source for fungal growth and xylanase production. One important aspect in the production of enzymes with industrial interest, refers to the process of recovery. Although the accumulation of extracellular enzymes during the solid-state fermentation facilitates their recovery, most of the methodologies used for time-consuming purification plus they are expensive and low yields. Aqueous twophase systems (ATPS) are an attractive bioseparative technique for purification and ideal for the recovery of enzymes and other biomolecules due to the low interfacial tension and high water content, which provides a favorable environment for the preservation of the biological activity of labile molecules. In this study, it was possible to produce xylanase, allow us to obtain enzymatic activities at 2300 U L<sup>-1</sup> and these results show us the ability of the microorganism to degrade and invade the substrate for growth. Enzyme was efficiently concentrated by ATPS. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2015.10.042>

---

**TÍTULO:** Potential use of soybean hulls and waste paper as supports in SSF for cellulase production by *Aspergillus niger*

**AUTORES:** Boggione María Julia a, Allasia María Belén b, Bassani Georgina a, Farruggia Beatriz

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 6(2016)1–8.

ELSEVIER

**FECHA:** February 2016

**RESUMEN:** Cellulase has by vast applications in the biofuel, pulp and paper, detergent and textile industries. The three components of the enzyme complex (endoglucanase, exoglucanase and  $\beta$ -glucosidase) can effectively de polymerize the cellulose chains in ligno cellulosic substrate. Solid-state fermentation (SSF) by fungi is a preferable production route for cellulase because of its low cost, among other advantages. This work describes the cellulase production by *Aspergillus niger* NRRL3 grown on SSF. SSF was carried out on soybean hulls and waste paper as supports. The effect of the support on cellulase production was assessed under a completely

randomized factorial design. The support-time interaction was significant for all the variables studied. Both materials were characterized in terms of water absorption index and critical humidity point. Samples of culture were analyzed with scanning electron microscopy (SEM) to study spores and fungal growth. Maximum endoglucanase activity was found at 96h using soybean hulls as support (5914.29UL<sub>1</sub>), being four times higher than that obtained using waste paper at the same fermentation time. The exoglucanase activity in soybean hulls was maximal at 96h(4551.19UL<sub>1</sub>), being 9.6 times higher than that obtained in waste paper at the same time. The maximum  $\beta$ -glucosidase activity in soybean hulls (984.01UL<sub>1</sub>) was reached at 96 h, being 1.7 times greater than that obtained in waste paper. Besides, the use of soybean hulls provided high volumetric productivities at shorter times, which may decrease production costs considering a scaled process. & 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

---

**TÍTULO:** Single method of purification for endoglucanase from *Aspergillus niger* by polyelectrolyte precipitation

**AUTORES:** María Julia Boggione, Ramiro Becher, Beatriz Farruggia

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology  
7(2016)118–126. ELSEVIER

**FECHA:** May 2016

**RESUMEN:** The precipitation of endoglucanase from *Aspergillus niger* with synthetic and natural electrically charged polymers – polyvinylsulfonate (PVS) and chitosan (CHS) – was characterized and applied to a simple method of purification of an enzymatic extract obtained from fungal culture under solid state fermentation (SSF). The kinetics of complex formation was determined. The results of the kinetic profile obtained for CHS and PVS indicated an exothermic mechanism for the formation of the non-soluble complex. CHS exhibited a marked stabilizing effect on endoglucanase. The enzyme precipitated successfully with both polymers. The precipitation method applied to commercial endoglucanase and the fungal extract showed similar patterns with high purification factors. The recovery of the activity in the redissolved precipitate from the fungal extract was close to 40% at pH 5.3 using PVS (1% w/w) as precipitating agent and the purification factor was near 9. The purification factor of endoglucanase in the precipitate of the enzymatic extract from SSF with CHS (0.05% w/v) was around 7. These parameters make this precipitation method appropriate to be included in the last stages of a downstream process, with advantages such as simplicity, scalability and ability to concentrate and stabilize the enzyme. & 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

---

**TÍTULO:** ANÁLISIS PROTEÓMICO DE UNA BIBLIOTECA DE HONGOS  
ENDOFÍTICOS POR MALDI-TOF-MS

**AUTORES:** Barolo M, Ruiz Mostacero N, Amigot S, Valles J, Anchart E, Fulgueira C,  
Castelli MV, López SN

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** III Congreso Argentino de Espectrometría de Masas–  
Libro de Resúmenes: pág.38

**FECHA:** 22-24/11/2016

**RESUMEN:** Se denomina microorganismo endofítico a aquel que reside dentro de los tejidos de un hospedero vegetal sin producirle enfermedad detectable.<sup>1</sup> Los hongos endofíticos son capaces de producir metabolitos secundarios bioactivos, relevantes en el tratamiento de diversas enfermedades. Estudios tendientes a caracterizar bibliotecas de hongos endofíticos aislados desde especies vegetales de nuestra región adquieren relevancia, tanto desde un punto de vista químico, de bioactividad como ecológico-descriptivo. La identificación de microorganismos por MALDI-TOF MS se basa en la comparación de perfiles de espectro de sus proteínas ribosomales (rango de  $m/z$  2.000 a 20.000 kDa) con perfiles de referencia. Es una técnica fiable, rápida y económica, utilizada fundamentalmente para la identificación de una amplia gama de microorganismos de importancia clínica.<sup>2</sup> El éxito de la identificación dependerá de la robustez de la base de datos utilizada para comparar con los espectros experimentales obtenidos. El objetivo del presente estudio fue obtener datos espectrales de una biblioteca compuesta por 92 aislamientos de hongos endofíticos obtenidos a partir de material vegetal de *Peperomia obtusifolia* y *P. arifolia*, y de *Ficus carica*, identificados por secuenciación de regiones conservadas del ADN ribosomal. Se utilizaron dos condiciones de cultivo: medio Sabouraud líquido con agitación y sólido, durante 7 días a 28°C, en oscuridad y extracción mecánica seguida de deshidratación del micelio con etanol absoluto.<sup>3</sup> Los análisis se realizaron en un espectrómetro de masas MicroFlex LRF MALDI-TOF (Bruker Daltonics). De las 92 muestras se obtuvieron 38 espectros, lo que resulta coincidente con datos de la literatura, y se atribuye a la variabilidad debida a propiedades inherentes a las muestras de hongos filamentosos.<sup>4</sup> De los 38 espectros obtenidos, los géneros fúngicos más representados fueron *Thielavia*, *Fusarium* y *Trichoderma*; con alta homogeneidad intra-género. El análisis multivariado de principales componentes (PCA) realizado sobre los datos espectrales permitió, con un 87% de varianza explicada para los 3 primeros CP, discriminar en agrupamientos que coinciden con la identificación molecular. Nuestras observaciones indican que a pesar del alto número de muestras negativas, los datos espectrales obtenidos son complementarios con los resultados de identificación molecular y pueden ser de utilidad en la caracterización de los aislamientos.

---

**TÍTULO:** EVALUACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE *Fusarium*

**AUTORES:** Fulgueira C, Bregy MV, Mover G, Amigot S, Valles J, Anchart E, Ruiz Mostacero N, Castelli MV, Bottai H, Ivancovich JJ, López SN

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** XXIII Congreso Latinoamericano y XIV Congreso Argentino de Microbiología– Libro de Resúmenes: MA-0196. Pág.31

**FECHA:** 26-30/9/2016

**RESUMEN:** Cepas del género *Fusarium*, hongos filamentosos hialinos ampliamente distribuidos en la naturaleza, actúan como patógenos o participan en relaciones benéficas. Son metabólicamente muy versátiles, capaces de producir metabolitos de interés agronómico y/o farmacéutico. Algunos pueden causar infecciones graves en pacientes inmunocomprometidos. En todos los casos es fundamental lograr una rápida identificación de las especies involucradas. Según el manual de Nelson *et al.* (1983) el



género comprende 46 especies, 30 de ellas agrupadas en 12 secciones. Las cepas incógnitas son crecidas en medios pobres como Agar Nutritivo Sintético para la descripción de la micromorfología y en Agar Papa Dextrosa (APD) para el estudio de la macromorfología. Sin embargo, identificaciones basadas solo en estas características pueden verse obstaculizadas por polimorfismos fenotípicos. La identificación de hongos por matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) se basa en la comparación de los perfiles de espectros de proteínas muy abundantes y ubicuas de cepas no identificadas con perfiles de referencia de taxones conocidos. Esta técnica se ha impuesto en los últimos años como una herramienta analítica robusta para la identificación de cepas principalmente de origen clínico. El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de 2 composiciones de APD: Nelson *et al.* y suplementado con sulfato de magnesio y carbonato de calcio (APDS, FAO 1985) en la identificación de 32 aislamientos de distintos orígenes (plantas, alimentos, muestras clínicas, etc.) compatibles con *Fusarium* y comparar sus resultados con los obtenidos empleando MALDI –TOF. Los inóculos fueron preparados a partir de medio Sabouraud. Los aislados fueron caracterizados de acuerdo a la macro y micromorfología propuesta por Nelson. El análisis de espectrometría de masas fue desarrollado en un Sistema Bruker Biotyper 3.1 MALDI-TOF empleando el procedimiento de extracción de proteínas fúngicas recomendado por el proveedor. Todos los aislamientos pudieron ser incluidos en alguna de las 12 Secciones descriptas por Nelson con una concordancia perfecta ( $K=1$ ,  $p<0,0001$ ). En 30 cepas se determinó la misma especie en ambos medios, con una concordancia sustancial ( $K=0,9243$ ,  $p<0,0001$ ). Mediante el test de Mc Nemar se comprobó que el uso de APDS permitió la identificación a nivel de especie de forma más concluyente ( $p=0.0003$ ), indicando que este medio es más adecuado para la descripción de *Fusarium*. Fueron encuestados 40 laboratorios de hospitales y centros de investigación que frecuentemente identifican *Fusarium* y solo uno de ellos utiliza APDS (2.5%), lo que muestra la necesidad de difundir el uso de esta composición. El empleo de MALDI-TOF no permitió obtener resultados concordantes con la identificación por taxonomía clásica evidenciando que la biblioteca de espectros representa un punto crítico para la identificación requiriendo una ampliación constante de sus bases de datos y la comparación con otra técnica de identificación (biología molecular).

---

**TÍTULO:** CENTRO DE REFERENCIA DE MICOLOGÍA, UN DESAFÍO  
CONSTANTE EN EL ESTUDIO DE HONGOS FITOPATÓGENOS

**AUTORES:** Ramadán S, Amigot S, Biasoli M, Bulacio L, Codino E, Dalmaso H,  
Fulgueira C, GómezC, Lo Piccolo M, Sortino M, Podestá MV, Tartabini M,  
Tosello ME, Scandiani MM, Luque A

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas – ISSN 2451-  
8069, F-110, pág. 125

**FECHA:** 7-9/10/2015

**RESUMEN:** El Centro de Referencia de Micología (CEREMIC) es una unidad de investigación científica, formación de recursos humanos y servicios a la comunidad, que desarrolla sus actividades En el campo de la micología humana, animal y vegetal. El

objetivo de este trabajo es difundir nuestras actividades para que más sectores de la comunidad se beneficien con nuestra experiencia, ampliando así la oferta de servicios brindados por el Centro. En el CEREMIC se realizan los siguientes servicios: aislamiento de hongos fitopatógenos a partir de distintos hospedantes, aislamiento, cuantificación e identificación de hongos filamentosos y levaduras a partir de cereales, oleaginosas, alimentos, suelo, agua, etc; control de esterilidad de ambientes, laboratorios e insumos; provisión de medios de cultivo y reactivos de laboratorio; preparación de inóculos; pruebas de promoción de crecimiento; susceptibilidad de productos con actividad antifúngica; análisis de micotoxinas, entre otros. Dentro de la Sección Taxonomía y Micoteca del CEREMIC se cuenta con una Colección de Cultivos en la que se conservan hongos levaduriformes y filamentosos, incluidos un número importante de hongos fitopatógenos. Los servicios relacionados con la misma incluyen: identificación taxonómica de hongos, provisión de cepas fúngicas de la Colección, depósito y conservación de aislados fúngicos derivados de otros centros de trabajo. Los métodos de conservación comprenden: congelamiento a  $-80^{\circ}\text{C}$ , preservación a temperatura ambiente bajo columna de aceite mineral estéril o en suspensión fisiológica estéril. Actualmente la Micoteca del CEREMIC cuenta con un total de 1887 aislados fúngicos, 480 levaduriformes y 1407 filamentosos. Dentro de los servicios prestados en los últimos dos años se han identificado 31 aislamientos fúngicos, se proveyeron 104 cepas de la Colección, se realizaron 13 análisis de alimentos y se evaluaron productos antifúngicos contra 16 hongos fitopatógenos, entre otros. El aislamiento y la correcta identificación de los hongos provenientes de las muestras derivadas al CEREMIC, redundan en el amplio stock de especies fúngicas con que cuenta nuestra Micoteca, de la cual se nutre un importante sector de la comunidad para sus proyectos de investigación. Los resultados obtenidos colaboran con los datos epidemiológicos y análisis estadísticos necesarios para visualizar problemas actuales y vislumbrar nuevas propuestas de trabajo para aquellas situaciones donde la producción agrícola se ve afectada por los patógenos fúngicos. El trabajo realizado nos permite estar en constante interrelación con las necesidades de la comunidad, ampliar nuestro horizonte de investigación y afrontar nuevos desafíos, todo esto respaldado por el marco académico de la Universidad Nacional de Rosario que avala nuestro accionar.

---

**TÍTULO:** ESTUDIO DEL CAMBIO EN PERFILES QUÍMICOS Y DE BIOACTIVIDAD POR EFECTO DE LA AGITACIÓN SOBRE CULTIVOS DEL HONGO ENDOFÍTICO *Phomopsis* sp. PO45

**AUTORES:** Ruiz Mostacero N, Castelli MV, Fulgueira C, López SN

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** XVII Congreso y XXXV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario – ISSN 23314-1484, pág. 131

**FECHA:** 30/11-01/12/2015

**RESUMEN:** La estrategia denominada OSMAC (OneStrainManyCompounds) propone la generación de grandes cambios en el metabolismo de un microorganismo a partir de la alteración sistemática de parámetros sencillos de cultivo. La posibilidad de activar de manera diferencial rutas biosintéticas presentes pero no siempre operantes en microorganismos, aumenta las oportunidades de aislamiento de metabolitos bioactivos novedosos. Como parte de nuestro proyecto de búsqueda de metabolitos bioactivos a

partir de hongos endofíticos, presentamos aquí el cambio en los perfiles químicos, sobre cromatografía en capa delgada (CCD) y de actividad antimicrobiana, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923, de extractos orgánicos obtenidos a partir del caldo de cultivo de un hongo endofítico (HE), a diferentes niveles de agitación. El HE de micelio estéril PO45, aislado a partir de hojas de *Peperomia obtusifolia* (L.) A. Dietr. (Piperaceae), fue identificado como *Phomopsis* sp. por biología molecular (amplificación del fragmento ITS del ADNr utilizando los primers ITS1 e ITS4). Una caja de Petri de 7 días de crecimiento en medio Czapek con toda su superficie cubierta por micelio fúngico, fue dividida en 2 y fraccionada en cuadrados de 0,5 cm de lado. Cada mitad fue vertida en un erlenmeyer con 200 ml de caldo Czapek, manteniendo constante la temperatura (28°C) y en oscuridad. Se estudiaron 3 condiciones de cultivo: una estática (I) y las demás a dos niveles de Fuerza Centrifuga Relativa, 0,24 y 0,31 xg, condición II y III respectivamente. El consumo y agotamiento de la Fuente de Carbono se evaluó mediante <sup>1</sup>H RMN y posteriormente por el método colorimétrico de Trinder para determinar el punto de corte del cultivo. Los perfiles químicos obtenidos sobre CCD corridos con fase móvil Acetato de Etilo/ Metanol/ Agua en proporción 100:13:10 y evaluados con los reveladores UV 254 nm y *p*-anisaldehído+ 365 nm (PAS + 365 nm), mostraron diferencias entre los extractos de las 3 condiciones. A 254 nm el extracto II presentó 3 bandas de muy baja intensidad que se encontraron en un intervalo de Rf entre 0,45 y 0,60, mientras que I mostró 2 bandas a Rf 0,59 y 0,66. La condición III fue la que presentó el mayor número de bandas, 5, siendo las de mayor intensidad las que revelaron a Rf 0,74, 0,62 y 0,52. La presencia, en I y III, de bandas que fluorescen de color blanco con PAS + 365 nm, podría relacionarse con los halos de inhibición que se observaron a los Rf 0,51 y 0,50, correspondientes a cada condición, siendo el halo correspondiente a III el de mayor tamaño entre los dos. Respecto al perfil de bioactividad, el extracto de la condición II no mostró actividad antimicrobiana situación que coincide con la ausencia de la banda fluorescente anteriormente descrita. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran la potencialidad de generar metabolitos con actividades biológicas interesantes variando sencillas condiciones de cultivo, permiten establecer condiciones para escalar los cultivos y proceder al aislamiento y caracterización de los mismos.



**TÍTULO:** The genus *Diaporthe* / *Phomopsis*: predator or symbiont? A review.

**AUTORES:** Ruiz Mostacero N, Castelli MV, Fulgueira C, López SN

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** a enviar a Journal of Natural Products ISSN 0163-3864

**FECHA:** 2016

**RESUMEN:** The coelomycete genus *Phomopsis* corresponds to the imperfect state of *Diaporthe* (Pyrenomycetes: Ascomycotina). *Phomopsis* is characterized by ostiolate black conidiomata containing elongated cylindrical phialides that produce two types of hyaline nonseptate conidia, alpha and beta. Although the generic circumscription is good, species delimitation is frequently problematic. Difficulties include lack of production of conidia and teleomorphs by many species, and morphological and growth rate variation within and among isolates. In addition, *Diaporthe* (incl. its *Phomopsis* state) has been reported as one of the most frequently encountered genera of endophytic fungi in several plant hosts. Species of *Phomopsis* / *Diaporthe* genus produce interesting

bioactive secondary metabolites, especially if they have been isolated from healthy plant tissues.

Some examples of isolated compounds include phomopsichalasin, cytochalasin, convolvulanic acid, isobenzofuranone, oblongolide, phomopsolide, phomodiol, phomoxanthone among others. Taking into consideration the diverse and complex nature of secondary metabolism, the promising bioactivity, and the challenges related to the sure identification of strains belonging to *Phomopsis* / *Diaporthe* genus, a comprehensive revision (since 1980 to date) of the available literature was carried out.

---

**TÍTULO:** ESTUDIO QUÍMICO DE LA DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS ENDOFÍTICOS EN *Peperomia obtusifolia* (L.) A. DIETR. (PIPERACEAE)

**AUTORES:** Ruiz Mostacero N, Fulgueira C, López SN.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Tesis Doctoral del Doctorado en Ciencias Químicas de la Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario

**FECHA:** 2016

**RESUMEN:**

Los estudios realizados sobre las cepas de hongos endofíticos de *Peperomia obtusifolia* muestran la diversidad química que es posible encontrar en apenas una planta y dentro de una misma especie de hongos. Los resultados presentados y discutidos aquí indican la necesidad de complementar diferentes estudios para lograr una correcta caracterización de los mismos. La aplicación de herramientas estadísticas para la comparación de datos complejos con un alto nivel de complejidad resulta una herramienta extremadamente útil para la selección de cepas metabólicamente diferentes. La bioactividad demostrada por extractos de hongos endofíticos reafirma que la diversidad química existente en ese nicho será fuente de moléculas bioactivas. La evaluación de la actividad antibacteriana frente a *S. aureus* de los compuestos Peperobtusina A y el Ácido 3,4-dihidro-5-hidróxi-2,7-dimetil-8-(3''-metil-2''-butenil)-2-(4'-metil-1',3'-pentadienil)-2-H-1-benzopirano-6-carboxílico indican que ellos aportan a la actividad antibacteriana detectada en los extractos, siendo ácido 1 (CIM = 15,00 µg/ml) el más activo.

---

**TÍTULO:** Application of soy hull biomass in removal of Cr(VI) from contaminated waters.

Kinetic, thermodynamic and continuous sorption studies

**AUTORES:** Patricia S. Blanes, María E. Bordoni, Juan C. González, Silvia I. García, Ana M. Atria,

Luis F. Sala, Sebastián E. Bellú, *J. of Env. Chem. Eng.* **4**, 2015, 516–526.

Lugar de publicación: Estados Unidos

Fecha: 12-2015

Resumen: Soy hull was evaluated as a new material for Cr(VI) removal from aqueous solutions. Cr(VI) removal was associated to a redox mechanism, in which Cr(VI) was reduced to Cr(III) by the biomass. The redox capacity of soy hull was 1.12 mmol g<sup>-1</sup>. A kinetic model that considers the redox reaction between Cr(VI) and the biomass surface was proposed. The maximum sorption capacity was 7.286 mg g<sup>-1</sup> at 20 °C and pH 1.5. Activation parameters and mean free energies suggest that the sorption process follows a mechanism of chemical sorption. Thermodynamic parameters show that Cr(VI) removal was spontaneous. The isosteric heat of sorption indicated that soy hull has an energetically homogeneous surface. XPS spectra showed that chromium bound on the biomass was Cr(III). These results were confirmed by XANES and EXAFS experiments. EPR spectra showed the presence of Cr(V)-soy hull at short contact time and only a signal corresponding to Cr(III)-soy hull at long contact times. Continuous sorption data were fitted to Thomas and modified dose–response models. The bed depth service time (BDST) model was used to scale-up the continuous sorption experiments.

---

**TÍTULO:** Application of green alga biomass for Mo(VI) sorption from contaminated water. kinetic, thermodynamic and continuous sorption studies, *J. of Colloid and Interface Science*, 44, 122 – 132, 2015.

**AUTORES:** F. A. Bertoni, A. Medeot, J. C. González, S. E. Bellú, L. F. Sala, *J. of Colloid and Interface Science* 446, 2015, 122–132.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Suecia

**FECHA:** 01-2015

**RESUMEN:**

*Spongomorpha pacifica* biomass was evaluated as a new sorbent for Mo(VI) removal from aqueous solution. The maximum sorption capacity was found to be 1.28 × 10<sup>6</sup> } 1 × 10<sup>4</sup> mg kg<sup>-1</sup> at 20 °C and pH 2.0. Sorption kinetics and equilibrium studies followed pseudo-first order and Langmuir adsorption isotherm models, respectively. FTIR analysis revealed that carboxyl and hydroxyl groups were mainly responsible for the sorption of Mo(VI). SEM images show that morphological changes occur at the biomass surface after Mo(VI) sorption. Activation parameters and mean free energies obtained with Dubinin–Radushkevich isotherm model demonstrate that the mechanism of sorption process was chemical sorption. Thermodynamic parameters demonstrate that the sorption process was spontaneous, endothermic and the driven force was entropic. The isosteric heat of sorption decreases with surface loading, indicating that *S. pacifica* has an energetically non-homogeneous surface. Experimental breakthrough curves were simulated by Thomas and modified dose–response models. The bed depth service time (BDST) model was employed to scale-up the continuous sorption experiments. The critical bed depth, Z<sub>0</sub> was determined to be 1.7 cm. *S. pacifica* biomass showed to be a good sorbent for Mo(VI) and it can be used in continuous treatment of effluent polluted with molybdate ions.

Application of soy hull biomass in removal of Cr(VI) from contaminated waters.  
Kinetic, thermodynamic and continuous sorption studies

Patricia S. Blanes, María E. Bordoni, Juan C. González, Silvia I. García, Ana M. Atria, Luis F. Sala, Sebastián E. Bellú, *J. of Env. Chem. Eng.* 4, 2015, 516–526.

Estados Unidos  
12-2015

Soy hull was evaluated as a new material for Cr(VI) removal from aqueous solutions. Cr(VI) removal was associated to a redox mechanism, in which Cr(VI) was reduced to Cr(III) by the biomass. The redox capacity of soy hull was 1.12 mmol g<sup>-1</sup>. A kinetic model that considers the redox reaction between Cr(VI) and the biomass surface was proposed. The maximum sorption capacity was 7.286 mg g<sup>-1</sup> at 20°C and pH 1.5. Activation parameters and mean free energies suggest that the sorption process follows a mechanism of chemical sorption. Thermodynamic parameters show that Cr(VI) removal was spontaneous. The isosteric heat of sorption indicated that soy hull has an energetically homogeneous surface. XPS spectra showed that chromium bound on the biomass was Cr(III). These results were confirmed by XANES and EXAFS experiments. EPR spectra showed the presence of Cr(V)-soy hull at short contact time and only a signal corresponding to Cr(III)-soy hull at long contact times. Continuous sorption data were fitted to Thomas and modified dose–response models. The bed depth service time (BDST) model was used to scale-up the continuous sorption experiments.

EPR and DFT analysis of biologically relevant Chromium(V) complexes with Dglucitol and D-glucose

S. Van Doorslaer, Q. Beirinckx, K. Nys, M. F. Mangiameli, B. Cuypers, H. Vrielinck and J. C. González, *J. Inorg. Biochem.* 162, 216-226, 06-2016

1,2-diolato ligands, such as carbohydrates and glycoproteins, tend to stabilize chromium(V), thus forming important intermediates that have been implicated in the genotoxicity of Cr(VI). Since many years, room-temperature continuous-wave electron paramagnetic resonance (EPR) at X-band microwave frequencies has been used as a standard characterization tool to study chromium(V) intermediates formed during the reduction of Cr(VI) in the presence of biomolecules. In this work, the added value is tested of using a combination of pulsed and high-field EPR techniques with density functional theory computations to unravel the nature of Cr(V) complexes with biologically relevant chelators, such as carbohydrates. The study focuses on the oxidochromium(V) complexes formed during reduction of potassium dichromate with glutathione in the presence of the monosaccharide D-glucose or the polyalcohol D-glucitol. It is shown that although the presence of a multitude of Cr(V) intermediates may hamper a complete structural determination, the combined EPR and DFT approach reveals unambiguously the effect of freezing on the location of the counterions, the gradual replacement of water ligands by the diols, and the preference of Cr(V) to bind certain conformers.

Annexin A2 and S100A10 in the mammalian oviduct

JM Teijeiro, ML Roldán, PE Marini  
*Cell and Tissue Research* – 363(2) 567-577  
2015

In many mammals, upon entry into the female reproductive tract, a subpopulation of sperm is stored in the oviduct forming a functional reservoir. In the oviducts of pig and cow, Annexin A2 (AnxA2) has been linked to the binding of sperm. This protein may exist as a monomer or bound to S100A10 and both forms are associated with different biological functions. S100A10 has not yet been reported in the oviduct. The objective of this work is to analyze for the presence of S100A10 in the oviduct and to advance the study of AnxA2 and S100A10 in this organ. This work shows the presence of both proteins, AnxA2 and S100A10, in the oviduct of human, pig, cow, cat, dog and rabbit. At least in pig, AnxA2 is found devoid of S100A10 in the outer surface of the apical plasma membrane of oviductal epithelial cells, indicating that it binds to sperm as a monomer or in association with proteins different from S100A10. In the apical

cytoplasm of pig oviductal epithelial cells, AnxA2 is associated with S100A10. In primary culture of porcine oviductal cells, the expression of ANXA2 is increased by progesterone, while the expression of S100A10 is increased by progesterone and estradiol. The widespread detection of both proteins in the oviduct of mammals indicates a probable conserved function in this organ. In summary, S100A10 and AnxA2 are widespread in the mammalian oviduct but AnxA2 binds sperm *in vivo* devoid of S100A10 and may be related to reservoir formation.

Protein kinase C activity in boar Sperm  
JM Teijeiro, PE Marini, MJ Bragado, LJ Garcia-Marin  
*Andrology*  
2016.

Male germ cells undergo different processes within the female reproductive tract to successfully fertilize the oocyte. These processes are triggered by different extracellular stimuli leading to activation of protein phosphorylation. Protein kinase C (PKC) is a key regulatory enzyme in signal transduction mechanisms involved in many cellular processes. Studies in boar sperm demonstrated a role for PKC in the intracellular signaling involved in motility and cellular volume regulation. Experiments using phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) showed increases in the Serine/Threonine phosphorylation of substrates downstream of PKC in boar sperm.

In order to gain knowledge about those cellular processes regulated by PKC, we evaluate the effects of PMA on boar sperm motility, lipid organization of plasma membrane, integrity of acrosome membrane and sperm agglutination. Also, we investigate the crosstalk between PKA and PKC intracellular pathways in spermatozoa from this species. The results presented here reveal a participation of PKC in sperm motility regulation and membrane fluidity changes, which is probably associated to acrosome reaction and to agglutination. Also, we show the existence of a hierarchy in the kinases pathway. Previous works on boar sperm suggest a pathway in which PKA is positioned upstream to PKC and this new results support such model.

Phosphoproteome analysis of endocrine regulation on the cow oviduct  
JM Teijeiro, PE Marini  
Conference 2016, Epigenetics and Periconception Environment  
setiembre 2016.

The oviduct is a dynamic organ which is the site of fertilization and contact with the early embryo and contributes important factors to its development. The interaction with gametes and embryo occurs under the influence of sex hormones that circulate during the fertile stage of the female cycle *in vivo*. Protein posttranslational modifications regulate their function playing a pivotal role in main cellular processes, being phosphorylation the best characterized. To gain insight into the hormonal regulated oviductal environment that interacts with gametes and embryo we analyse the phosphoproteome in relation to endocrine control. Bovine oviductal cell extracts from luteal and follicular phases (LP, FP) were classified according to ovary characteristics and assayed by 2D electrophoresis followed by Western blot analysis for phosphorylation. No changes were detected when antiPKC substrate and antiphosphotyrosine antibodies were used. Instead, with antiPKA substrate antibodies, 32 changes between LP and FP were detected, 26 spots were positive exclusively in FP and 6 in LP. When oviducts were treated with the cAMP analogue dibutyryl cyclicAMP, 7 exclusive spots and 1 shared with LP were detected, indicating a probable cAMP independent pathway. When pregnant cow oviducts were analysed, most phosphorylated

spots from both phases became undetectable. Upon primary cultures analysis to interrogate their use as model for phosphorylation studies the pattern was completely lost. Seventeen phase exclusive spots were identified by LC-MS/MS followed by bioinformatics analysis, showing involvement in response to hypoxia, endoplasmic reticulum signalling and apoptotic pathways. In conclusion, PKA produces changes in the phosphorylation state of oviductal cell proteins in relation to the female cycle. Further study of the identified proteins will help to get insight over the complex nature of the maternal environment that surrounds the gametes and early embryo.

---

**TÍTULO:** Análisis proteómico de fluido oviductal bovino

**AUTORES:** JM Teijeiro, PE Marini

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas Facultad de Ciencias Veterinarias

Setiembre, 2016

La ganadería enfrenta en nuestro país problemas que se agravan permanentemente, por lo tanto, es necesario contribuir a su solución aprovechando las posibilidades que ofrece la biotecnología. El desarrollo de las cuatro generaciones de la biotecnología reproductiva representa uno de los mejores ejemplos en la historia del éxito de la transferencia de tecnología. Las biotecnologías destinadas a la producción de embriones *in vitro* necesitan medios de cultivo que intentan imitar el microambiente del oviducto, órgano donde ocurren la fecundación y los primeros estadios del desarrollo embrionario. Debido al éxito de las técnicas de fecundación *in vitro* y transferencia embrionaria, el oviducto ha sido considerado como un mero conducto para las gametas y los embriones. Sin embargo, en las últimas décadas se ha demostrado que el oviducto está involucrado en varios procesos importantes para la fisiología reproductiva<sup>1</sup>. El fluido secretado por el oviducto provee el ambiente en el cual ocurren la maduración y el transporte de las gametas, la fecundación y el desarrollo temprano del embrión<sup>2</sup>. La secreción oviductal es un fluido complejo formado por componentes secretados por el epitelio oviductal y provenientes del plasma sanguíneo<sup>3</sup>. La comparación de los componentes proteicos del fluido oviductal de animales en diferentes estadios del ciclo reproductivo ayudaría a dilucidar qué proteínas están presentes y cuales no en el oviducto en momentos específicos del proceso reproductivo. De esta manera, proteínas presentes o ausentes al momento de la fecundación o durante de la preñez, podrían ser tenidas en cuenta al momento de formular medios de incubación para producción de embriones *in vitro*, *mejorando la eficacia de las tecnologías*. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el objetivo de este trabajo es investigar acerca de los perfiles de proteínas del fluido oviductal durante la fase folicular y la fase lútea bovinas. Para ello, se obtuvieron oviductos de un frigorífico local y luego de evaluar el estadio del ciclo reproductivo a través de la observación de los ovarios, el fluido oviductal se colectó por aspiración<sup>4</sup>. Los fluidos correspondientes a los oviductos ipsi y contralateral a la presencia del folículo dominante o al cuerpo lúteo se mantuvieron por separado y se procedió a medir la concentración de proteínas. Luego se procedió a realizar electroforesis bidimensionales utilizando 500 microgramos de proteínas provenientes de los fluidos oviductales correspondientes a los oviductos ipsilaterales. Posteriormente a la tinción de los geles mediante la técnica de coomassie coloidal, se obtuvieron las imágenes digitales correspondientes a tres repeticiones por estadio las cuales se analizaron con el software Progenesis SameSpot (TotalLab). En total se pudieron identificar 156 spots que corresponderían a 156 proteínas o sus isoformas. Resultó de particular interés el análisis de 34 proteínas que mostraron diferencias en cuanto a su presencia en ambas



condiciones, las cuales fueron enviadas para su secuenciación a través de espectrometría de masas. La identificación de estas proteínas permitirá luego establecer sus posibles funciones en la fisiología oviductal y/o si podrían influir sobre la fisiología de las gametas o los embriones tempranos, constituyendo un avance en la caracterización de la composición del fluido oviductal en distintos estadios del ciclo ovárico.

“Functional Characterization of a LOV-Histidine Kinase Photoreceptor from *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Kraiselburd I, Gutt A, Losi A, Gärtner W, Orellano EG (2015) Lugar de publicación:.

2015

The blue-light (BL) absorbing protein Xcc-LOV from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* is composed of a LOV-domain, a histidine kinase (HK) and a fused response regulator. A spectroscopic characterization of Xcc-LOV identified intermediates and kinetics of the protein's photocycle. Steady-state and time-resolved fluorescence measurements yielded quantum yield of triplet ( $\phi_T = 0.68 \pm 0.03$ ) and photoproduct formation ( $\phi_{390} = 0.46 \pm 0.05$ ), and triplet decay lifetime ( $\tau_T = 2.4 - 2.8 \mu\text{s}$ ). Fluorescence of tryptophan and tyrosine residues was not influenced upon light-dark conversion, emphasizing the practical absence of conformational changes. Photochemistry was entirely blocked upon mutation of the instrumental cysteine C76 (C76S), causing a ca. seven-fold longer lifetime of the triplet state ( $\tau_T = 16 - 18.5 \mu\text{s}$ ). Optoacoustic spectroscopy (LIOAS) yielded the energy content of the triplet state. Interestingly, Xcc-LOV did not undergo the volume contraction reported for other LOV domains within the observation time window, although the back-conversion into the dark state is accompanied by a volume expansion. A radioactivity-based enzyme function assay revealed a larger HK activity in the lit than in the dark state. The C76S mutant showed a still lower enzyme function, indicating the dark state activity probably being corrupted by a remaining portion of the long-lived lit state.

“KatG, the bifunctional catalase of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, responds to hydrogen peroxide and contributes to epiphytic survival on citrus leaves”

Tondo ML, Delprato ML, Kraiselburd I, Fernández Zenoff MV, Farías ME, Orellano EG.

*PLoS ONE* 18;11(3):e0151657.

2016

*Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc) is the bacterium responsible for citrus canker. This bacterium is exposed to reactive oxygen species (ROS) at different points during its life cycle, including those normally produced by aerobic respiration or upon exposition to ultraviolet (UV) radiation. Moreover, ROS are key components of the host immune response. Among enzymatic ROS-detoxifying mechanisms, catalases eliminate H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, avoiding the potential damage caused by this specie. Xcc genome includes four catalase genes. In this work, we studied the physiological role of KatG, the only bifunctional catalase of Xcc, through the construction and characterization of a modified strain (XcckatG), carrying an insertional mutation in the katG gene. First, we evaluated the involvement of KatG in the bacterial adaptive response to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. XcckatG cultures exhibited lower catalase activity than those of the wild-type strain, and this activity was not induced upon treatment with sub-lethal doses of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Moreover, the KatG-deficient mutant exhibited decreased tolerance to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toxicity compared to wild-type cells and accumulated high intracellular levels of peroxides upon exposure to sub-lethal concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. To further study the role of KatG in Xcc physiology, we evaluated bacterial survival upon exposure to UV-A or UV-B radiation. In both conditions, XcckatG showed a high mortality in comparison to Xcc wild-type. Finally, we studied the development of bacterial biofilms. While structured biofilms were observed for the Xcc wild-type, the development of these structures was impaired for XcckatG. Based on these results, we demonstrated that KatG is responsible for Xcc adaptive response to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and a key component of the bacterial response to oxidative



[Mn(pyr2en)(H<sub>2</sub>O)(CH<sub>3</sub>OH)]Cl, [Mn(pyr2pn)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]ClO<sub>4</sub> and [Mn<sub>2</sub>(pyr2bn)<sub>3</sub>].4H<sub>2</sub>O, where H<sub>2</sub>pyr2en = 1,2-bis(pyridoxylidenamino)ethane, H<sub>2</sub>pyr2pn = 1,3-bis(pyridoxylidenamino)propane and H<sub>2</sub>pyr2bn = 1,4-bis(pyridoxylidenamino)butane. The four complexes catalyze the dismutation of superoxide efficiently with IC<sub>50</sub> values in the range of 1.22 to 2.15 μM, evaluated through the nitro blue tetrazolium photoreduction inhibition superoxide dismutase assay, in aqueous solution of pH 7.8. The length of the alkyl spacer in the diamine fragment plays a key role in the antioxidant activity of these complexes, with [Mn(pyr2pn)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]ClO<sub>4</sub> showing the lowest IC<sub>50</sub> value..

---

**TÍTULO.-** EN LA CONSTRUCCIÓN DE UN DISPOSITIVO DE FOTOSÍNTESIS ARTIFICIAL

**AUTORES** ;Ezequiel, Bernatene; Claudia Palopoli; Sandra Signorella

**LUGAR:**XIX. Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires, Fecha 12-15 Abril 2015.

**RESUMEN:** NO corresponde

---

**TÍTULO** DISMUTACIÓN DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Y O<sub>2</sub>•- CATALIZADA POR Mn(F2-SALPN)+.ESTUDIOS CINÉTICOS Y MECANÍSTICOS

**AUTORES** Claudia Palopoli; Guillermo Gómez; Ana Foi; Sandra Signorella

**LUGAR** XIX. Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires, Fecha: 12-15 Abril 2015.

**RESUMEN:** NO corresponde

---

**TÍTULO-** NUEVO COMPLEJO DINUCLEAR DE Mn CON UN LIGANDO POLICARBOXÍLICO BIOMIMETICO DE CATALASA

**AUTORES:** Verónica Solis; Claudia Palopoli; Sandra Signorella

**LUGAR:** XIX. Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires, Fecha: 12-15 Abril 2015.

**RESUMEN:** NO corresponde

---

**TÍTULO.-** Estudio de adsorción de ligando sobre TiO<sub>2</sub> en agua, mezclas de MeOH-H<sub>2</sub>O y

EtOH-H<sub>2</sub>O para la construcción de fotocatalizadores.

**AUTORES:** Ezequiel, Bernatene; Claudia, Palopoli y Sandra, Signorella

**LUGAR:** XV Encuentro: Superficies y Materiales Nanoestructurados NANO 2015, Rosario, Fecha: 13-15 Mayo 2015.

**RESUMEN:** NO corresponde

1) "Análisis químico y biológico de muestras de agua de consumo humano de la zona urbana de Arroyo Seco de la provincia de Santa Fe, Argentina"

Trossero C.; Toplikar B.; Vega M.; Mosconi N.; Pochettino A.; Formigli R.; Vignale M.; Rizzotto M. Anuario Latinoamericano de Educación Química (ALDEQ) 2015 – 2016 N° XXXI, pp. 70-75. ISSN: 0328-087X. URL: [www.unsl.edu.ar/](http://www.unsl.edu.ar/)

Resumen: Algunas sustancias (antropogénicas y no antropogénicas) pueden dañar el material genético, originando efectos biológicos adversos. El propósito de este trabajo fue evaluar la posible presencia de sustancias genotóxicas en muestras de agua de consumo humano de la zona urbana de la localidad de Arroyo Seco empleando los test de Ames y de *Allium cepa* (prueba de la cebolla), complementado por análisis químico. En todas las muestras se encontró un nivel de arsénico superior al recomendado por el Código Alimentario Argentino, lo cual no hace recomendable su uso para consumo. Los parámetros macro y microscópicos estudiados en el *Allium cepa* test no mostraron alteración en las muestras provenientes de agua de pozo, pero la muestra proveniente de la red de distribución, la cual es sometida a tratamiento de potabilización con hipoclorito, mostró aumento significativo en el número de metafases con el aumento de concentración de agua de Arroyo Seco. Además, es probable que la cloración del agua también influya en la aparición de la mutagenicidad detectada mediante el test de Ames en dichas muestras. La coherencia y complementariedad de resultados entre los dos test biológicos aplicados permite sugerir la utilidad de su aplicación conjunta para este tipo de muestras.

Palabras clave: contaminantes; genotoxicidad; cáncer; *Allium cepa* test; test de Ames

## 2) “Heteroleptic complexes of antifungal drugs with the silver ion”

Cecilia Giulidori, Natalia Mosconi, Brenda Toplikar, Marisa Vega, Patricia Williams, Laura Svetaz, Marcela Raimondi, Marcela Rizzotto\* (2016), DOI: 10.1002/poc.3603, Journal of Physical Organic Chemistry, ISSN: 0894-3230, J. Phys. Org. Chem. 29: 656–664

Abstract: In spite of a large number of antibiotics and chemotherapeutics available for medical use, the emergence of old and new antibiotic resistance in the last decades revealed a substantial medical need for new classes of antimicrobial agents. In this paper we report the synthesis, characterization by elemental analysis, Fourier transform infrared and Nuclear magnetic resonance spectroscopies, and antifungal properties of two heteroleptic complexes of albendazole (albz) with Ag(I), using KSCN and o-phenanthroline (phen) as the second ligand, respectively. Both complexes showed a moderate antifungal activity with all the assayed fungi, mainly *Candida albicans* and *Candida tropicalis*, that showed no activity against albendazole. Copyright © 2016 John Wiley & Sons, Ltd.

Keywords: albendazole; antifungal properties; heteroleptic complexes; silver complexes

## 3) Vega M, Mosconi N, Toplikar B, Coca V, Rizzotto M.\*

THE TEST OF *Allium cepa* L.: AN EFFECTIVE METHOD FOR THE DETECTION OF PHYTO, CITO AND GENOTOXICITY OF THE PROMUTAGEN 2-AMINOFUORENE, BIOCELL 40 (suppl. 4), 2016 ISSN 1667-5746 (online version), ABSTRACTS A1-A71

The common onion (*Allium cepa* L.) is considered a standard organism for rapid tests, since there is high correlation with tests in mammals and possesses an enzymatic system that allows the evaluation of promutagens. The promutagen 2-aminofluorene (2AF), aromatic hydrocarbon dye precursor and diagnostic mutagen in the Ames test with the addition of metabolic activation was studied. In case of phyto, cito and / or genotoxicity, we could infer that the plant is metabolizing to 2AF and thus would be a valid indicator for this promutagen, opening the possibility to try other similar ones. This is advantageous with respect to the test in bacteria with metabolic activation being simple and much more economical. According to the ANOVA and Student's t-test significantly different mean values were observed with respect to the negative control in all cases of

root elongation except in the 2 mg/L solution. The mitotic index showed significant differences in the 50 and 25 mg/L solutions, and chromosomal aberrations were detected while the means 5 and 2 mg/L did not differ from the negative control. No mitotic figures were observed at the highest concentrations (75 and 100 mg/L). The results obtained suggest that the onion test was a good indicator for the detection of the phyto, cyto and genotoxic properties of the promutagen 2AF.

4) Mosconi N, Toplikar B, Vega M, Giulidori C, Coca V, Rizzotto M.\*  
PHYTO, CYTO AND GENOTOXIC STUDY OF THE Ag(I)-ALBENDAZOLE-PHENANTHROLINE COMPLEX THROUGH THE ALLIUM TEST, BIOCELL 39 (suppl. 4), 2015 ABSTRACTS (A19: pp: 10-10) ISSN 1667-5746 (online version) .  
URL: [www.sbr.org.ar/](http://www.sbr.org.ar/)

In recent years there has been a dramatic increase in severe fungal infections in immunocompromised patients. Albendazole (albz), as other benzimidazole derivatives, has many biological properties (antihelmintics, anti-cancer, antiviral, antifungal, etc.) which increase by complexing with metal cations. In this paper we report the phyto, cyto and genotoxic study of the heteroleptic complex formed by the silver(I) cation and albz and o-phenanthroline (phen) as ligands, synthesized in our laboratory. The complex showed moderate antifungal activity, mainly against *Candida albicans* and *C. tropicalis*. Selected yellow onion bulbs were exposed to increasing doses of the tested substances (the complex and the ligands, 7 bulbs/dose). Mother solution (0.0625 g/L) and its dilutions (3/4, 1/2, 1/4 and 1/20) were analyzed. Linear fit of the data and the analysis of variance (ANOVA) were used to analyze the dependence between the biological parameters and the concentration of each tested substance. While albz showed no influence on the elongation of roots ( $p > 0.05$ ), both phen as the complex produced a non-linear decrease of this parameter, with significant difference in mean relative to the negative control. The mitotic index of meristem cells of *Allium cepa* L was not affected by albz in the studied conditions. Arrest of mitosis in prophase was observed with phen and less with the complex. Low numbers of chromosomal aberrations were observed in the studied conditions for the three tested substances. The effects observed with the complex on roots elongation and MI could be due to the presence of phen, because they were not observed for albz. In conclusion, while antifungal activity was promising, the future use of the complex Ag(I)-albz-phen as medical drug must be considered carefully, requiring deeper and/or diversify biological studies of the same.

5) Marcela Rizzotto and Ana Pontoriero  
“Chemopreventive action of L-ascorbic acid and green tea infusions on the acute toxicity and mutagenicity of reaction mixtures nitrite-sulfonamide” J Clin Toxicol 2015 Volume 5, Issue 3, ISSN: 2161-0495. JCT, an open access journal:

<http://dx.doi.org/10.4172/2161-0495.S1.015> Evento: OMICS 4th Global Summit on Toxicology August 24-26, 2015 Philadelphia, USA

DNA damage is a critical factor in carcinogenesis. Human exposure to endogenously formed N-nitroso compounds is related to an increased risk of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer. Endogenous nitrosation occurs in the stomach between amine and amide precursors and nitrite. Sulfonamides, which are widely used for their various properties (antimicrobial, antidiabetic, herbicides, analytical reagents, etc.), are potentially nitrosatable due to its amine and/or amide functions. Previously we found mutagenicity in reaction mixtures formed by selected sulfonamide and nitrite, so, we began to study the antimutagenic activity of L-ascorbic acid (AA) and green tea

extracts on the acute toxicity and mutagenicity of these reaction mixtures by means of the Allium and Ames tests and by electronic spectroscopic analysis.

Conclusions:

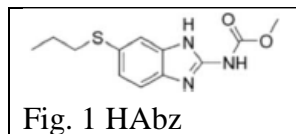
1. AA and green tea infusion showed a high ability to inhibit the direct mutagenicity of reaction mixtures sulfonamidenitrite (tested sulfonamides: sodium sulfathiazole, complex cobalt (III)-sulfathiazole), either added before or after the nitrite, at pH 1-2.
2. By the Allium test it was found that not genotoxic substances are produced by interacting of AA with such mixtures sulfonamide-nitrite.
3. No direct mutagenicity was observed in the glibenclamide-nitrite system in the Ames test. This system showed the same microscopic behavior that glibenclamide with the Allium test. The UV-Vis spectra allow to check that there is no reaction between the said sulfonamide and nitrite in the experimental conditions.
4. For all the above, both AA and green tea infusions are presented as effective anti mutagens to mitigate the mutagenicity of mixtures sulfonamide-nitrite in acidic media.

6) Mosconi, N.; Giulidori, C.; Toplikar, B.; Vega, M.; Álvarez, S.L.; Hure, E.; Rizzotto, M.

“Antifungal activity of a silver-albendazole complex” International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Conference Proceeding (2015) p.150. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148. Evento: 3rd International Meeting on Pharmaceutical Sciences 18-19 September, 2014, Córdoba, Argentina. [www.ijpsr.com](http://www.ijpsr.com)

Keywords: albendazole, silver complex, antifungal.

Benzimidazole and its derivatives possess a wide variety of useful biological properties (antiviral, fungicides, insecticides, etc.). Among them, albendazole (Fig. 1) is an effective anthelmintics.



Many active medicinal drugs possess enhanced potential administrated as metal-based compounds. Silver is effective against a broad range of bacteria, fungi, and yeast. As HABz is poorly soluble in many solvents, which makes it difficult the

reaction, the complex Ag–HABz was synthesized as a white solid in glacial acetic acid (HABz 0.1327 g -0.5 mmol- plus 0.5 mmol of aqueous AgNO<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (300.1 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz) spectra of the Ag–HABz complex suggest the coordination of the Ag(I) with the non-protonated N atom of the imidazole ring. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of Ag-Habz and AgNO<sub>3</sub> (Table 1) were determined by using broth microdilution techniques according with the Clinical and Laboratory Standards Institute. Both MIC and MFC were confirmed by two replicates.

Table 1: MIC/MFC values in µg/mL of Ag-HABz complex and AgNO<sub>3</sub> acting against human opportunistic pathogenic fungi. In bold: remarkable results

Fungi Sample	Ca	Ct	Cn	Afl	Afu	Ani	Mg	Tr	Tm
Ag-HABz	31.25/ 62.50	31.25/ 62.50	7.80/ 7.80	<b>3.40/ 7.80</b>	<b>3.40/ 7.80</b>	<b>3.40/ 7.80</b>	62.50/ 62.50	62.50/ 62.50	62.50/ 62.50
AgNO <sub>3</sub>	6.36/ 12.72	12.72/ 25.44	3.18/ 12.72	12.72/ 12.72	25.44/ 25.44	25.44/ 25.44	12.72/1 2.72	6.36/ 6.36	12.72/ 12.72

Ca: *Candida albicans* ATCC 10231; Ct: *Candida tropicalis* C 131; Cn: *Cryptococcus neoformans* ATCC 32264; Afl: *Aspergillus flavus* ATCC 9170; Afu: *Aspergillus fumigatus* ATCC 26934; Ani: *Aspergillus niger* ATCC 9029; Mg: *Microsporum gypseum* C 115; Tr: *Trichophyton rubrum* C 113; Tm: *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9972. ATCC: American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA); C:

CEREMIC, Centro de Referencia Micológica, FCByF, Rosario, Argentina. Positive controls: Amphotericin B, Ketoconazole, Terbinafine

---

**TÍTULO:** Dimerization, redox properties and antioxidant activity of two manganese(III) complexes of difluoro- and dichloro-substituted Schiff-base ligands

**AUTORES:** C. Palopoli, G. Gómez, A. Foi, F. Doctorovich, S. Mallet-Ladeira, C. Hureau, S. Signorella

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Journal of Inorganic Biochemistry

**FECHA:** 16/11/2016

**RESUMEN:** Two mononuclear Mn(III) complexes [Mn(3,5-F<sub>2</sub>salpn)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>][B(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>] · 2H<sub>2</sub>O (**1** · 2H<sub>2</sub>O) and [Mn(3,5-Cl<sub>2</sub>salpn)(OAc)(H<sub>2</sub>O)] · H<sub>2</sub>O (**2** · H<sub>2</sub>O), where H<sub>2</sub>salpn = 1,3-bis(salicylidenamino)propane, have been prepared and characterized. The crystal structure of **1** · H<sub>2</sub>O shows that this complex forms  $\mu$ -aqua dimers with a short Mn ... Mn distance of 4.93 Å. Under anaerobic conditions, the two complexes are stable in solution and possess *trans*-diaxial symmetry with the tetradentate Schiff base ligand symmetrically arranged in the equatorial plane. When left in air, these complexes slowly dimerize to yield high-valent [Mn(IV)<sub>2</sub>(3,5-X<sub>2</sub>-salpn)<sub>2</sub>( $\mu$ -O)<sub>2</sub>] in which each X<sub>2</sub>-salpn ligand wraps the two Mn ions. This process is favored in basic medium where the deprotonation of the bound water molecule is concomitant with air oxidation. The two complexes catalyze the dismutation of superoxide (superoxide dismutase (SOD) activity) and peroxide (catalase (CAT) activity) in basic medium. The phenyl-ring substituents play an important role on the CAT reaction but have little effect on SOD activity. Kinetics and spectroscopic results indicate that **1** and **2** catalyze H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disproportionation through a cycle involving Mn(III)<sub>2</sub> and Mn(IV)<sub>2</sub> dimers, unlike related complexes with a more rigid and smaller chelate ring, which employ Mn(III)/Mn(V) O monomers.

---

**TÍTULO:** Synthesis, characterization and activity of imidazolate-bridged and Schiff-base dinuclear complexes as models of Cu,Zn-SOD. A comparative study

**AUTORES:** Verónica A. Daier, Eric Rivière, Sonia Mallet-Ladeira, Diego M. Moreno, Christelle Hureau, Sandra R. Signorella

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Journal of Inorganic Biochemistry

**FECHA:** 09/07/2016

**RESUMEN:** Two imidazolate-bridged diCu(II) and Cu(II)Zn(II) complexes, [CuZn(dien)<sub>2</sub>( $\mu$ -Im)](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> · MeOH (**1**) and [Cu<sub>2</sub>(dien)<sub>2</sub>( $\mu$ -Im)](ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> (**2**) (Im = imidazole, dien = diethylenetriamine), and two complexes formed with Schiff base ligands, [CuZn(salpn)Cl<sub>2</sub>] (**3**) and [Cu<sub>2</sub>(salbutO)ClO<sub>4</sub>] (**4**) (H<sub>2</sub>salpn = 1,3-bis(salicylidenamino)propane, H<sub>3</sub>salbutO = 1,4-bis(salicylidenamino)butan-2-ol) have been prepared and characterized. The reaction of [Cu(dien)(ImH)](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> with [Zn(dien)(H<sub>2</sub>O)](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> at pH  $\geq$  11 yields complex **1**; at lower pH, the Cu<sub>3</sub>Zn tetranuclear complex [Cu<sub>3</sub>Zn(dien)<sub>2</sub>( $\mu$ -Im)]<sub>3</sub>Zn(OH<sub>2</sub>)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> (**1a**) forms as the main reaction product. X-ray diffraction of **1a** reveals that the complex contains a metal centered windmill-shaped cation having three blades with a central Zn ion and three peripheral



capping Cu(dien) moieties bound to the central Zn ion through three imidazolate bridges. The four complexes are able to disproportionate  $O_2^{\bullet-}$  in aqueous medium at pH 7.8, with relative rates  $4 > 1 > 2 \gg 3$ .  $[Cu_2(\text{salbutO})]^+$  (4) is the most easily reducible of the four complexes and exhibits the highest activity among the SOD models reported so far; a fact related to the ligand flexibility to accommodate the copper ion in both CuI and CuII oxidation states and the lability of the fourth coordination position of copper facilitating stereochemical rearrangements

---

**TÍTULO:** A New Mononuclear Manganese(III) Complex of an Unsymmetrical Hexadentate  $N_3O_3$  Ligand Exhibiting Superoxide Dismutase and Catalase-like Activity: Synthesis, Characterization, Properties and Kinetics Studies

**AUTORES:** G. N. Ledesma, H. Eury, E. Anxolabéhère-Mallart, C. Hureau, S. R. Signorella

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Journal of Inorganic Biochemistry

**FECHA:** 02/03/2015

**RESUMEN:** A mononuclear MnIII complex  $MnL \cdot 4H_2O$  ( $H_3L = 1$ -[N-(2-pyridylmethyl),N-(2-hydroxybenzyl)amino]-3-[N'-(2-hydroxybenzyl),N'-(4-methylbenzyl)amino]propan-2-ol) has been prepared and characterized. This complex catalyzes the dismutation of superoxide efficiently, with catalytic rate constant  $k_{cat} = 1.7 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$  and  $IC_{50} 1.26 \mu M$ , obtained through the nitro blue tetrazolium photoreduction inhibition superoxide dismutase assay, in aqueous solution of pH 7.8.  $MnL$  is also able to disproportionate more than 300 equivalents of  $H_2O_2$  in  $CH_3CN$ , with initial rate of  $H_2O_2$  decomposition given by  $r_i = k_{cat} [MnL]^2 [H_2O_2]$  and  $k_{cat} = 1.32(2) mM^{-2} min^{-1}$ . The accessibility of the MnIV state ( $E_p = 0.53 V$  vs. saturated calomel electrode), suggests  $MnL$  employs a high-valent catalytic cycle to decompose  $O_2^{\bullet-}$  and  $H_2O_2$ .

---

**TÍTULO:** Synthesis, Structure and SOD Activity of Mn Complexes With Symmetric Schiff Base Ligands Derived From Pyridoxal

**AUTORES:** S. Signorella, V. Daier, G. Ledesma, C. Palopoli, D. F. Back, E. S. Lang, C. Rossini Koppe, M. Brum Pereira, E. F. Rosso, P. C. Piquini, C. Giacomeli

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Polyhedron

**FECHA:** 30/09/2015

**RESUMEN:** This study describes the synthesis, crystal structure and antioxidant

activity of manganese(III) complexes with Schiff-base ligands obtained from

condensation of pyridoxal with alkyl diamines:  $[Mn(\text{pyr}2\text{en})(H_2O)_2]Cl \cdot 4H_2O$ ,

$[Mn(\text{pyr}2\text{en})(H_2O)(CH_3OH)]Cl$ ,  $[Mn(\text{pyr}2\text{pn})(H_2O)_2]ClO_4$  and  $[Mn_2(\text{pyr}2\text{bn})_3]$

$\cdot 4H_2O$ , where  $H_2\text{pyr}2\text{en} = 1,2$ -bis(pyridoxylidenamino)ethane,  $H_2\text{pyr}2\text{pn} = 1,3$

bis(pyridoxylidenamino)propane and  $H_2\text{pyr}2\text{bn} = 1,4$ -bis(pyridoxylidenamino) butane.

The four complexes catalyze the dismutation of superoxide efficiently with  $IC_{50}$  values

in the range of 1.22–2.15  $\mu\text{M}$ , evaluated through the nitro blue tetrazolium photoreduction inhibition superoxide dismutase assay, in aqueous solution of pH 7.8. The length of the alkyl spacer in the diamine fragment plays a key role in the antioxidant activity of these complexes, with  $[\text{Mn}(\text{pyr}2\text{pn})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{ClO}_4$  showing the lowest  $\text{IC}_{50}$  value.

---

**TÍTULO:** A single serine residue determines selectivity to monovalent metal ions in metalloregulators of the MerR family

**AUTORES:** Ibáñez, M. M., Checa, S. K., and Soncini, F. C.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Journal of Bacteriology 197, 1606-1613. ISSN: 0021-9193

**FECHA:** 2015

**RESUMEN:** MerR metalloregulators alleviate toxicity caused by an excess of metal ions, such as copper, zinc, mercury, lead, cadmium, silver, or gold, by triggering the expression of specific efflux or detoxification systems upon metal detection. The sensor protein binds the inducer metal ion by using two conserved cysteine residues at the C-terminal metal-binding loop (MBL). Divalent metal ion sensors, such as MerR and ZntR, require a third cysteine residue, located at the beginning of the dimerization (5) helix, for metal coordination, while monovalent metal ion sensors, such as CueR and GolS, have a serine residue at this position. This serine residue was proposed to provide hydrophobic and steric restrictions to privilege the binding of monovalent metal ions. Here we show that the presence of alanine at this position does not modify the activation pattern of monovalent metal sensors. In contrast, GolS or CueR mutant sensors with a substitution of cysteine for the serine residue respond to monovalent metal ions or Hg(II) with high sensitivities. Furthermore, in a mutant deleted of the Zn(II) exporter ZntA, they also trigger the expression of their target genes in response to either Zn(II), Cd(II), Pb(II), or Co(II).

---

**TÍTULO:** A sensitive whole-cell biosensor for the simultaneous detection of a broad-spectrum of toxic heavy metal ions

**AUTORES:** Cerminati, S., Soncini, F. C., and Checa, S. K.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Chemical Communications 51, 5917-5920. ISSN: 1359-7345

**FECHA:** 2015

**RESUMEN:** Bacterial biosensors are simple, cost-effective and efficient analytical tools for detecting bioavailable heavy metals in the environment. This work presents the design, construction and calibration of a novel whole-cell fluorescent biosensory device that, simultaneously and with high sensitivity, reports the presence of toxic mercury, lead, cadmium and/or gold ions in aqueous samples. This bio-reporter can be easily applied as an immediate alerting tool for detecting the presence of harmful pollutants in drinking water.

---

**TÍTULO:** Survival in amoeba- a major selection pressure on the presence of bacterial copper and zinc resistance determinants? Identification of a “copper pathogenicity island”

**AUTORES:** Hao, X., Lüthje, F. L., Qin, Y., Franke McDevitt, S., Lutay, N., Hobman, J., Asiani, K., Soncini, F. C., German, N., Zhang, S., Zhu, Y.-G., and Rensing, C.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Applied Microbiology and Biotechnology 99, 5817-5824. ISSN: 0175-7598

**FECHA:** 2015

**RESUMEN:** The presence of metal resistance determinants in bacteria usually is attributed to geological or anthropogenic metal contamination in different environments or associated with the use of antimicrobial metals in human healthcare or in agriculture. While this is certainly true, we hypothesize that protozoan predation and macrophage killing are also responsible for selection of copper/zinc resistance genes in bacteria. In this review, we outline evidence supporting this hypothesis, as well as highlight the correlation between metal resistance and pathogenicity in bacteria. In addition, we introduce and characterize the Bcopper pathogenicity island<sup>^</sup> identified in *Escherichia coli* and *Salmonella* strains isolated from copper- and zinc-fed Danish pigs.

---

**TÍTULO:** “Bacterial copper resistance and virulence”

**AUTORES:** Pontel, L. B., Checa, S. K. and Soncini, F. C.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** “Bacteria-metal interactions”; Edited by Daad Saffarini. Springer International Publishing Switzerland. Chapter 1, pp1-19. ISBN: 978-3-319-18569-9. DOI: 10.1007/978-3-319-18570-5\_1

**FECHA:** 2015

**RESUMEN:** Copper is essential for most organisms. However, it is also toxic even at low levels, especially when its local concentration or intracellular distribution is not properly controlled. Similar to other organisms, bacteria have evolved specific copper homeostasis systems for maintaining a suitable intracellular concentration of this essential metal and at the same time, avoiding its toxic effects. Recent evidence indicates that intracellular copper actively contributes to the host innate immune response against bacterial infections and pathogens have acquired specific mechanisms to deal with this intoxicant. Here, we focus on the different arrays of metal sensing and regulatory systems employed by bacterial pathogens to mount the proper response to counteract the toxic effects of copper allowing survival and replication inside the host.

---

**TÍTULO:** A novel peptidoglycan D,L-endopeptidase induced by *Salmonella* inside eukaryotic cells is required for virulence

**AUTORES:** Rico-Pérez, G., Pezza, A., De Pedro, M. A., Pucciarelli, G., Soncini, F. C., García-del Portillo, F.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Molecular Microbiology 99, 546–556. ISSN: 0950-382X

**FECHA:** 2016

**RESUMEN:** Bacteria remodel peptidoglycan structure in response to environmental changes. Many enzymes are involved in peptidoglycan metabolism; however, little is known about their responsiveness in a defined environment or the modes they assist bacteria to adapt to new niches. Here, we focused in peptidoglycan enzymes that intracellular bacterial pathogens use inside eukaryotic cells. We identified a peptidoglycan enzyme induced by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in

fibroblasts and epithelial cells. This enzyme, which shows  $\gamma$ -D-glutamyl-mesodiaminopimelic acid D,L-endopeptidase activity, is also produced by the pathogen in media with limited nutrients and in resting conditions. The enzyme, termed EcgA for endopeptidase responding to cessation of growth', is encoded in a *S. Typhimurium* genomic island absent in *Escherichia coli*. EcgA production is strictly dependent on the virulence regulator PhoP in extra- and intracellular environments. Consistent to this regulation, a mutant lacking EcgA is attenuated in the mouse typhoid model. These findings suggest that specialised peptidoglycan enzymes, such as EcgA, might facilitate *Salmonella* adaptation to the intracellular lifestyle. Moreover, they indicate that readjustment of peptidoglycan metabolism inside the eukaryotic cell is essential for host colonisation.

---

**TÍTULO:** Compartment and signal-specific co-dependence in the transcriptional control of *Salmonella* periplasmic copper homeostasis

**AUTORES:** Pezza, A., Pontel, L. B., López, C., and Soncini, F. C.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS) 113, 11573–11578. doi: 10.1073/pnas.1603192113. ISSN: 1091-6490

**FECHA:** 2016

**RESUMEN:** Copper homeostasis is essential for bacterial pathogen fitness and infection, and has been the focus of a number of recent studies. In *Salmonella*, envelope protection against copper overload and macrophage survival depends on CueP, a major copper-binding protein in the periplasm. This protein is also required to deliver the metal ion to the Cu/Zn superoxide dismutase SodCII. The *Salmonella*-specific CueP-coding gene was originally identified as part of the Cue regulon under the transcriptional control of the cytoplasmic copper sensor CueR, but its expression differs from the rest of CueR-regulated genes. Here we show that cueP expression is controlled by the concerted action of CueR, which detects the presence of copper in the cytoplasm, and by CpxR/CpxA, which monitors envelope stress. Copper-activated CueR is necessary for the appropriate spatial arrangement of the -10 and -35 elements of the cueP promoter, and CpxR is essential to recruit the RNA polymerase. The integration of two ancestral sensory systems—CueR, which provides signal specificity, and CpxR/CpxA, which detects stress in the bacterial envelope—restricts the expression of this periplasmic copper resistance protein solely to cells encountering surplus copper that disturbs envelope homeostasis, emulating the role of the CusR/CusS regulatory system present in other enteric bacteria.

---

**TÍTULO:** Prescripción de medicamentos oncológicos en un Servicio de Oncología: adecuación a las guías de práctica clínica.....

**AUTORES:** Palchik V, Traverso ML, Colautti M, Bianchi M, Dolza ML, Catena JM, Salamano M.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Revista Farmacia Hospitalaria. Farm Hosp.2016;40(6):491-495

**FECHA:** 2016.

**RESUMEN:**

*Objetivo:* Evaluar la prescripción de medicamentos oncológicos de la Red de Salud Pública Municipal de Rosario según su adecuación las guías de práctica clínica.

*Método:* Estudio farmacoepidemiológico descriptivo en pacientes adultos en un Servicio Oncológico. Enero-junio 2012. Se evaluó la adecuación de las prescripciones a las guías de práctica clínica de referencia. La evaluación de las prescripciones incluyó la frecuencia de prescripción de los medicamentos oncológicos, y su adecuación a GPC. Se seleccionaron las siguientes GPC en las ediciones vigentes en el período de estudio:

- Protocolos para Tratamientos Oncológicos, Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe (SF), guía de referencia a nivel local.
- Pautas en Oncología, diagnóstico, tratamiento y seguimiento del cáncer del Instituto Roffo, considerada de referencia nacional.
- A nivel internacional: las desarrolladas por la European Society for Medical Oncology (ESMO), las de The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) de EE.UU. y las de la American Cancer Society (ACS).

*Resultados:* El 51,8 % de los diagnósticos tuvo al menos un medicamento prescripto que no coincidía con lo recomendado por al menos una de las guías consideradas. Las prescripciones de doxorubicina e ifosfamida no coincidieron con lo recomendado por ninguna guía. El 5,4% de las prescripciones no estaban consideradas en las guías locales, el 7,7% no lo estaban en las nacionales y, respecto de las internacionales, el 4,2 % no estaban consideradas en la European Society for Medical Oncology, el 2,3% por el American Cancer Society y sólo el 1,9% por la National Comprehensive Cancer Network.

*Conclusiones:* La prescripción de oncológicos se adecúa más a las guías internacionales, podría deberse a que no existe aún una definición estándar en el manejo de las patologías tumorales por parte del Estado Nacional.

---

**TÍTULO:** Acidosis-induced downregulation of hepatocyte mitochondrial aquaporin-8 and ureagenesis from ammonia

**AUTORES:** S M. Molinas, L R. Soria, J Marrone, M Danielli, L Trumper R A. Marinelli.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Biochem. Cell Biol. 93: 417–420 (2015)

**FECHA:** ...8/6/2015.....

**RESUMEN:** It has been proposed that, during metabolic acidosis, the liver downregulates mitochondrial ammonia detoxification via ureagenesis, a bicarbonate-consuming process. Since we previously demonstrated that hepatocyte mitochondrial aquaporin-8 channels (mtAQP8) facilitate the uptake of ammonia and its metabolism into urea, we studied whether mtAQP8 is involved in the liver adaptive response to acidosis. Primary cultured rat hepatocytes were adapted to acidosis by exposing them to culture medium at pH 7.0 for 40 h. Control cells were exposed to pH 7.4. Hepatocytes exposed to acid medium showed a decrease in mtAQP8 protein expression (–30%,  $p < 0.05$ ). Ureagenesis from ammonia was assessed by incubating the cells with  $^{15}\text{N}$ -labeled ammonia and measuring  $^{15}\text{N}$ -labeled urea synthesis by nuclear magnetic resonance. Reduced ureagenesis was found in acidified hepatocytes (–31%,  $p < 0.05$ ). In vivo studies in rats subjected to 7 days acidosis also showed decreased protein expression of hepatic mtAQP8 (–50%,  $p < 0.05$ ) and reduced liver urea content (–35%;  $p < 0.05$ ). In conclusion, our in vitro and in vivo data suggest that hepatic mtAQP8 expression is downregulated in acidosis, a mechanism that may contribute to decreased ureagenesis from ammonia in response to acidosis

---

**TÍTULO:** Modelos experimentales en nefrología. Modelo de riñón aislado y perfundido

**AUTORES:** L Trumper, LA. Monasterolo

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Nefrologia Argentina 14 (1), 115-118, 2016

**FECHA:** ...8/2/2016.....

**RESUMEN:** El modelo de riñón aislado y perfundido brinda la posibilidad de analizar la función renal bajo condiciones definidas y sin la intervención de factores sistémicos. Este modelo consiste en aislar al riñón de la vasculatura sistémica, y perfundirlo a través de la arteria renal con un medio de perfusión con características similares al plasma o a la sangre, conservando las características anatómicas, bioquímicas y funcionales del riñón intacto. Esto posibilita circunscribir factores extrarrenales que pueden complicar la interpretación de la información obtenida con experimentos realizados in vivo. Además, la utilización del órgano aislado permite el estudio de la función renal bajo condiciones en las que el operador puede modificar las variables a analizar de manera controlada. En el presente artículo se revisa la técnica de preparación, los criterios de viabilidad, las principales características hemodinámicas y tubulares, y las aplicaciones del modelo.

---

**TÍTULO:** Efectos del pretratamiento con glutamina sobre las alteraciones en la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa provocadas por dosis nefrotóxicas de acetaminofeno ( APAP) en ratas

**AUTORES:** Brovedan MA, Molinas SM, Pisani G, Monasterolo LA, Trumper L

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Actas Congreso. XVIII Congreso y XXXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario

**FECHA:** ...5/122/2016.....

**RESUMEN:** En nuestro laboratorio desarrollamos un modelo de nefrotoxicidad aguda por acetaminofeno (APAP). En trabajos anteriores encontramos que una dosis nefrotóxica de APAP promueve un aumento en la abundancia de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPasa y pérdida de su anclaje a la membrana basolateral del túbulo proximal así como alteraciones funcionales e histológicas. HSP70 se ha asociado a protección en respuesta a diversas injurias. Glutamina es un sustrato fisiológico capaz de inducir la síntesis de HSP70. Nuestro objetivo fue estudiar los efectos de glutamina sobre las alteraciones en la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPasa provocadas por dosis nefrotóxicas de APAP. Se trabajó con ratas Wistar macho adultas. Tratamientos: Administración de i) dosis única de glutamina de 0.75 g/kg p.c., i.p. (GLN, n= 4); ii) dosis única de APAP de 0.75 g/kg p.c., i.p. (APAP, n= 6); iii) dosis única de glutamina 30 minutos antes de APAP (GLN/APAP, n= 5); iv) vehículo (C, n= 5). Luego de los tratamientos los animales se ubicaron en jaulas metabólicas. Al finalizar la recolección de orina durante 16 hs, fueron anestesiados y se les extrajo sangre y ambos riñones. Se evaluaron parámetros de función renal y se realizaron homogenados de corteza renal para la detección de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa y HSP70 por Western blot. Un riñón se utilizó para la detección inmunohistoquímica de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa. GLN sola no modificó los parámetros de función renal. Los niveles de urea y creatinina plasmáticas aumentaron luego de 16 hs de la administración de APAP, y este aumento se previno con el pretratamiento con glutamina (Creatinina: C= 5.9 ± 0.5, APAP= 14.8 ± 2.3\*, GLN= 6.5 ± 1.0, GLN-APAP= 6.3 ± 1.1 mg/l; \* p<0.05 versus C). GLN previno los aumentos en las excreciones fraccionales de H<sub>2</sub>O, Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> provocados por APAP. GLN provocó la inducción de HSP70 en corteza. APAP indujo la expresión de HSP70, y estos niveles se mantuvieron elevados con el tratamiento dual

GLN/APAP. Corroboramos el aumento de la abundancia de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa provocado por APAP. El tratamiento con GLN no previno este aumento. Sin embargo el análisis inmunohistoquímico mostró que luego del tratamiento GLN/APAP la enzima mantiene su normal localización, la que se encontró alterada por la administración de APAP. El mantenimiento de la normal localización de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa garantizaría la normal reabsorción de sodio observada en los animales que recibieron el pretratamiento con GLN. Si bien del presente trabajo no puede inferirse el mecanismo involucrado, tomados en conjunto nuestros resultados nos permiten concluir que GLN podría considerarse como una estrategia terapéutica para prevenir los efectos nefrotóxicos de APAP.

---

**TÍTULO:** EFFECT OF GLUTAMINE ON THE ALTERATIONS IN NA<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPASE INDUCED BY NEPHROTOXIC DOSES OF ACETAMINOPHEN (APAP) IN RATS

**AUTORES:** Brovedan MA, Molinas SM, Pisani G, Monasterolo LA, Trumper L

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Biocell 40 (suppl 4), A, 2016

**FECHA:** ...8/12/2016.....

**RESUMEN:** We have previously reported the development of acute renal failure after the administration of a toxic dose of APAP. A nephrotoxic dose of APAP promoted an increased level of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase and its detachment from its membrane anchoring as well as functional and histological alterations. HSP70 has been associated with cytoprotection in response to several injuries. Our aim was to study the effects of glutamine (GLN) on the alterations in Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase promoted by APAP. Male Wistar rats were used. Treatments: Administration of i) single dose of APAP 0.75 g/kg b.w. i.p (APAP, n=6). ii) single dose of GLN 0.75 mg/kg b.w.. i.p (GLN, n= 4) iii) GLN 30 min before APAP (GLN/APAP n = 5). iv) vehicles (Control, n= 5). At the end of a 16 h-collection period, animals were anesthetized and blood and kidneys were collected. Renal function, HSP70 cortical abundance and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase cortical abundance and distribution were analysed. GLN protected against the renal functional effects of APAP. HSP70 expression was induced in APAP, GLN and GLN/APAP groups. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase abundance was increased to the same level in the APAP and the GLN/APAP group, but Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase maintained its basolateral localization in rats receiving the dual treatment. Our results support the idea that GLN pretreatment could be a therapeutic option to prevent APAP-induced renal injury

---

**TÍTULO:** EFFECT OF DIAZEPAM ON THE EXPRESSION OF THE HEAT SHOCK PROTEIN 70 (HSP70) IN PRIMARY CULTURES OF RENAL CELLS

**AUTORES:** Rossi, Paola; Quiroga, M. Victoria; Molinas, Sara M.; Trumper, Laura; Monasterolo, Liliana

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Biocell 39 (suppl. 4) A4, 2015

**FECHA:** 2015.....

**RESUMEN:** It has been previously reported that the pretreatment with ligands of the 18 kDa translocator protein (TSPO) exerts protective effects in experimental models of renal injury. Different mechanisms which could be involved in this beneficial effect have been proposed. The benzodiazepine diazepam, widely used in the clinic, is a TSPO ligand. The aim of the present work was to assess the effect of diazepam on the expression of HSP70 in renal cells. Primary cultures of rat renal cortical or medullary

cells were used. From the fourth day of their obtaining, cultures were incubated in the presence of 100µM diazepam (DZ) or the corresponding vehicle (Veh). After 48 hours of exposure to the benzodiazepine, cells were processed for the detection of HSP70 protein by Western blot techniques. Statistical analysis was performed; \*p < 0,05; n=3 per group. The analysis of band densities (HSP70/Coomassie, arbitrary units) showed that incubation of cells in the presence of DZ induced an increase in the expression of HSP70, such in cortical (Veh: 2,86 ± 0,18, DZ: 4,96 ± 0,16 \*) as in medullary (Veh: 5,34 ± 1,26, DZ: 10,82 ± 1,13\*) preparations. These results demonstrate that treatment with the TSPO ligand, diazepam, induces the expression of HSP70 in kidney cells obtained from different regions of the organ. This protein is associated with cytoprotective mechanisms; and the involvement of these mechanisms in the TSPO ligands-mediated prevention of kidney damage remains to be further studied

---

**TÍTULO:** Efecto de Diazepam sobre la expresión de la proteína de estrés térmico HSP70 en cultivos primarios de células renales

**AUTORES :** Rossi, Paola; Quiroga, M. Victoria; Molinas, Sara M.; Trumper, Laura; Monasterolo, Liliana.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN:** Actas Congreso. XLVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Farmacología Experimental

**FECHA:** ...4/11/2015.....

**RESUMEN:** En la bibliografía se ha reportado que el pretratamiento con ligandos de la proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) ejerce efectos protectores en modelos experimentales de injuria renal. Se han propuesto distintos mecanismos que podrían estar involucrados en la capacidad de este tipo de drogas de prevenir el daño renal. La benzodiazepina diazepam, de amplio uso en la clínica, es ligando TSPO. En el presente trabajo se ha planteado evaluar los posibles efectos de diazepam sobre la expresión de la proteína asociada a mecanismos citoprotectores, HSP70, en cultivos primarios de células renales. Se trabajó con cultivos primarios de células provenientes de corteza y médula renal de ratas. Se corroboró la expresión de TSPO en ambos tipos de cultivos, mediante la detección del ARNm de TSPO con técnicas de RT-PCR. Los cultivos crecieron en medio DMEM/Ham's F12. A partir del cuarto día de su obtención, los cultivos fueron incubados en presencia de 100 µM de diazepam (DZ) o su vehículo (control, Veh). Luego de 48 hs de exposición a la benzodiazepina, las células fueron levantadas y sometidas a lisis mediante sonicación para la preparación de muestras que fueron utilizadas para la detección de la proteína HSP70 mediante técnicas de Western blot. Se utilizaron geles corridos en paralelo y teñidos con azul de Coomassie como control de carga. Las diferencias entre medias se analizaron estadísticamente; \*p<0,05; n=3 por grupo. El análisis de densidades de bandas (HSP70/Coomassie, unidades arbitrarias) mostró que la incubación de las células en presencia de DZ indujo un aumento significativo en la expresión de HSP70, tanto en cultivos obtenidos de corteza (Veh: 2,86 ± 0,18, DZ: 4,96 ± 0,16 \*) como de médula (Veh: 5,34 ± 1,26, DZ: 10,82 ± 1,13\*) renal. Estos resultados demuestran que el tratamiento con el ligando TSPO induce la expresión de HSP70 en células renales provenientes de distintas regiones del órgano. Esta proteína se asocia a mecanismos citoprotectores, debiendo corroborarse si los mismos estarían involucrados en la prevención del daño renal mediada por ligandos TSPO.

---

**TÍTULO:** Efectos de diazepam sobre la proteína de estrés térmico HSP70 en riñones de



ratas diabéticas

**AUTORES** : . Rossi, Paola; Molinas, Sara M.; Pisani, Gerardo; Trumper, Laura; Monasterolo, Liliana.

**LUGAR DE PUBLICACIÓN**: Actas Congreso. Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Fisiología.

**FECHA**: 6/10/2016.....

**RESUMEN**: Se han reportado efectos beneficiosos de ligandos de la proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) en distintos modelos de daño renal. En este trabajo se propuso evaluar los efectos de una droga ligando TSPO utilizada en la clínica, diazepam, sobre parámetros funcionales, estructurales y bioquímicos y sobre la expresión de HSP70 en riñones de ratas diabéticas.

Ratas Wistar macho adultas recibieron 50mg/Kg de estreptozotocina (STZ) i.p. o su vehículo (C). Luego de una semana se comenzó el tratamiento con diazepam (DZ) i.p. 3mg/Kg/día; y una semana más tarde se realizaron los experimentos. Se realizaron estudios convencionales de clearance y se obtuvieron los riñones para cortes histológicos (H&E, PAS, Direct Red 80); determinación de niveles de malondialdehído (MDA), como índice de lipoperoxidación, y expresión de la proteína HSP70 por Western blot. Se realizó el análisis estadístico de los resultados (promedio  $\pm$  SEM; \* $p < 0.05$ ).

DZ no modificó la glicemia (g/l) en animales controles o diabéticos (C=  $1.55 \pm 0.7$ ; STZ=  $3.87 \pm 1.5^*$ ). La expresión de HSP70 se encontró aumentada en los riñones STZ respecto a los controles. La administración de DZ indujo una disminución en los niveles de HSP70 (intensidad bandas HSP70/Rojo Ponceau, unidades arbitrarias) en el grupo STZ (C=  $6.9 \pm 1.1$ ; C+DZ=  $9.4 \pm 0.5$ ; STZ=  $11.6 \pm 0.3^*$ ; STZ+DZ=  $4.3 \pm 0.8\#$ ; \* $p < 0.05$  vs C; # $p < 0.05$  vs STZ). DZ normalizó los valores disminuidos de clearance de creatinina (ml/h/g riñón) (C=  $67.9 \pm 3.6$ ; C+DZ=  $71.4 \pm 2.4$ ; STZ=  $52.4 \pm 3.5^*$ ; STZ+DZ=  $73.8 \pm 6.6\#$ ; \* $p < 0.05$  vs C; # $p < 0.05$  vs STZ) y disminuyó la excreción urinaria de  $\gamma$ GT (U/mg creatinina) (C=  $3.7 \pm 0.4$ ; C+DZ=  $3.4 \pm 0.7$ ; STZ=  $15.3 \pm 2.9^*$ ; STZ+DZ=  $6.3 \pm 1.4\#$ ; \* $p < 0.05$  vs C; # $p < 0.05$  vs STZ) en animales diabéticos. El tratamiento con DZ no modificó los niveles de MDA (nmol/mg prot.) (C=  $1.36 \pm 0.13$ ; STZ=  $2.25 \pm 0.19^*$ ), ni las alteraciones histopatológicas inducidas por diabetes en tejido renal (lesiones glomerulares focales con expansión mesangial, ligero engrosamiento de membranas basales de algunos túbulos proximales).

En este estadio temprano de diabetes se observa un aumento en la expresión de HSP70 renal, que revierte con la administración de diazepam. Esta disminución en HSP70 se asocia a mejoría en algunos parámetros renales. Si bien se han demostrado propiedades citoprotectoras para esta chaperona, recientemente se ha descrito la activación del eje HSP70-Toll-like receptor 4 y consecuente empeoramiento de la nefropatía diabética temprana. Las acciones de DZ sobre esta vía requieren futuras investigaciones.