

Incorporación de un novedoso complejo de tinidazol con propiedades antimicrobianas a dos formas semisólidas de uso tópico

Dina Marcela Martínez Carmona¹, Gloria Elena Tobón Zapata^{2*}

Grupo de investigación Diseño y Formulación de Medicamentos, Cosméticos y Afines, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia, Cl. 67 # 53 - 108, Medellín, Antioquia, Colombia. Fax: [57+4]2638282.

¹ Correo electrónico: dinamar1788@gmail.com

^{2*} Autora para correspondencia. Correo electrónico: elena.tobon@udea.edu.co

Recibido: 2 de agosto de 2019

Revisado: 2 de marzo de 2021

Aceptado: 8 de marzo de 2021

RESUMEN

Introducción: el aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos comúnmente empleados para el tratamiento de infecciones cutáneas pone en manifiesto la necesidad de encontrar medicamentos alternativos y eficaces, capaces de contrarrestar este problema de salud que no sólo implica una región, sino que se ha convertido en un problema de salud mundial. Se ha demostrado que un novedoso complejo a base de tinidazol y cobre ($[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$) posee buena actividad antimicrobiana, sin embargo, para que pueda emplearse como una alternativa para el uso tópico, debe poseer las características necesarias para incorporarse en una formulación que permita su aplicación. **Objetivo:** las formas farmacéuticas semisólidas constituyen el grupo más empleado dentro de las formulaciones dermatológicas; se elaboraron dos tipos formulaciones una tipo crema y otra crema-gel, con el fin de verificar en cuál de ellas incorpora convenientemente el complejo $[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$. Para ambas formulaciones se determinaron las propiedades organolépticas, pH, área de extensibilidad, viscosidad, y tamaño de partícula del complejo. **Resultados:** obtenidos evidencian las ventajas de la formulación tipo crema frente a la crema-gel.

Palabras claves: Compuesto de coordinación, crema, crema-gel, extensibilidad.

SUMMARY

Incorporation of a novel tinidazole complex with antimicrobial properties into two semi-solid topical forms

Introduction: the increase in bacterial resistance to antibiotics commonly used for the treatment of skin infections highlights the need to find alternative and effective drugs, capable of counteracting this health problem that not only involves a region but has become into a global health problem. A novel complex based on tinidazole and copper ($[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$) has been shown to have good antimicrobial activity, however, in order to be used as an alternative for topical use, it must have the characteristics necessary to be incorporated into a formulation that allows its application. **Aim:** semi-solid pharmaceutical forms are the most widely used group within dermatological formulations; Two types of formulations were elaborated, one type of cream and the other cream-gel, in order to verify in which of them the complex $[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$ is conveniently incorporated. For both formulations, the organoleptic properties, pH, area of extensibility, viscosity, and particle size of the complex were determined. **Results:** obtained show the advantages of the cream-type formulation compared to the cream-gel.

Keywords: Complex, cream, cream-gel, extensibility.

RESUMO

Incorporação de um novo complexo de tinidazol com propriedades antimicrobianas a duas formas semissólidas para uso tópico

Introdução: o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos comumente utilizados no tratamento de infecções cutâneas evidencia a necessidade de encontrar medicamentos alternativos e eficazes, capazes de fazer frente a esse problema de saúde que não envolve apenas uma região, mas se tornou um problema de saúde global. Um novo complexo à base de tinidazol e cobre ($[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$) demonstrou ter boa atividade antimicrobiana, porém, para ser utilizado como alternativa para uso tópico, deve ter as características necessárias para ser incorporado em uma formulação que permita sua aplicação. **Objetivo:** as formas farmacêuticas semissólidas são o grupo mais utilizado nas formulações dermatológicas; foram elaborados dois tipos de formulações, um tipo creme e outra creme-gel, a fim de verificar em qual delas o complexo $[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$ está convenientemente incorporado. Para

ambas as formulações foram determinadas as propriedades organolépticas, pH, área de extensibilidade, viscosidade e tamanho de partícula do complexo. **Resultados:** os obtidos mostram as vantagens da formulação tipo creme em relação ao gel-creme.

Palavras-chave: Complexo, creme, creme-gel, extensibilidade.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo es la resistencia a los antibióticos. Cada vez es mayor el número de infecciones (neumonía, tuberculosis, gonorrea, salmonelosis, entre otras) cuyo tratamiento se vuelve más difícil debido a la pérdida de eficacia de los antibióticos tradicionales. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), si no se toman medidas urgentes, muchas infecciones comunes y lesiones menores volverán a ser potencialmente mortales [1].

En consecuencia, se ha prestado atención a los agentes antimicrobianos seguros, nuevos o alternativos en el campo de la quimioterapia antimicrobiana. Las infecciones tópicas de la piel ocurren con frecuencia y a menudo representan desafíos terapéuticos para los profesionales de la salud, a pesar de los numerosos agentes antimicrobianos disponibles en la actualidad.

El cobre es bien conocido por sus propiedades antimicrobianas. Se ha utilizado como algicida, germicida y fungicida durante décadas. Varios mecanismos antimicrobianos del cobre fueron propuestos en artículos recientes, incluida la formación de radicales hidroxilo, reactivos que conduce al daño de la integridad celular, la desnaturalización del ADN mediante la unión del cobre a las moléculas de proteínas, la inactivación de enzimas y la obstrucción de los grupos funcionales de proteínas por el desplazamiento de iones esenciales [2-4]. También se ha demostrado que los iones de cobre tienen actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, responsables de infecciones comunes en piel [5]. Estudios previos han demostrado que las sales de zinc y cobre inactivan el virus del herpes simple tipo 1 (VHS), responsable del herpes labial, tanto *in vivo* como *in vitro* [6-9]. Otros estudios demuestran la eficacia de una sal de cobre (sulfato) en el tratamiento de la pitiriasis versicolor, una infección micótica superficial de la piel generalmente causada por especies de *Malassezia* [10, 11]. La pitiriasis versicolor es una de las enfermedades cutáneas más comunes en regiones tropicales y subtropicales que se caracteriza por parches y máculas escamosas finas [12].

Por otro lado, el tinidazol es utilizado ampliamente como un agente antiprotozoario, su actividad frente a microorganismos anaerobios lo hace un medicamento eficaz [13].

En esa línea, la modificación de una molécula biológicamente activa mediante la incorporación de un metal, para dar lugar a un complejo de coordinación tiene como ventaja la obtención de una molécula mejorada en aspectos tales como potencia, estabilidad, reducción de efectos secundarios o la posibilidad de una administración dirigida [14].

La investigación sobre la actividad biológica de los compuestos de coordinación derivados de imidazol con iones de metales de transición ha demostrado que la actividad citotóxica del ligando se ve reforzada por la presencia del metal. El anillo imidazólico posee múltiples sitios de unión, lo que lo hace capaz de coordinarse con una variedad de iones metálicos inorgánicos o de interactuar con moléculas orgánicas a través de enlaces no covalentes para producir medicamentos supramoleculares, que pueden tener no sólo bioactividad, sino posiblemente ejercer mecanismos de doble acción que son útiles para superar resistencias a fármacos [15, 16].

La actividad antimicrobiana del nuevo complejo ($[\text{Cu}(\text{tnz})_2(\text{NO}_3)_2]$) fue evaluada previamente frente a cepas de *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus* exhibiendo una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 1 mg/mL [17, 18].

La actividad antimicrobiana del cobre y de los compuestos imidazólicos se ha investigado durante muchos años, sin embargo, la incorporación de un compuesto de coordinación con cobre como ingrediente antimicrobiano no se ha evaluado en formulaciones tópicas. El objetivo del presente estudio fue formular una crema y crema-gel tópicos que contengan un novedoso complejo de tinidazol con cobre y evaluar sus características, estabilidad inicial al cabo de 36 meses.

PARTE EXPERIMENTAL

Elaboración de la crema y crema-gel a base del complejo

Para la elaboración de las dos formas farmacéuticas tópicas (crema y crema-gel) como formas de dosificación del compuesto se empleó una técnica tradicional, que implicó la fusión de las grasas (fase A) y el calentamiento de la fase acuosa (fase B) para su posterior homogenización. En el caso de la crema-gel se preparó una fase adicional (fase C) correspondiente al gel, posteriormente, se incorporó el complejo en la fase acuosa de forma mecánica, a una concentración de 1 %. Se tuvo en cuenta el cálculo del HLB para las formulaciones. Las diferentes proporciones de las materias primas utilizadas se muestran a continuación:

Crema-gel

Fase A: aceite mineral 1,0 %, alcohol cetílico 2,5 %, alcohol estearílico 2,5 %, monoestereato de glicerilo 3,5 %, miristato de isopropilo 2,5 %, Vitamina E 0,3 %.

Fase B: agua desionizada 59 %, conservante 0,2 %, Twen 20 2,5 %.

Fase C: carbopol 0,2 %, agua 25 %, trietanolamina (99 %) 0,2 %.

Crema

Fase A: monoestereato de glicerilo 2,2 %, alcohol cetílico 1,8 %, alcohol estearílico 1,8 %, miristato de isopropilo 2,0 %, lanolina 1,0 %. Emulgin B1 3,1 %, Emulgin B2 0,9 %.

Fase B: agua desionizada 81 %, glicerina 5,0 %, agente conservante 0,2 %, pantenol 1,0 %.

Tamaño de partícula

Para determinar tamaño de partícula se empleó un equipo Zetasizer Nano, y el procesamiento de las mediciones se llevó a cabo mediante el *software* Zetasizer versión 7.11.

Viscosidad

Se midió la viscosidad en un viscosímetro Brookfield modelo LVDV-II+, con aguja N.º 4. Las mediciones se realizaron por triplicado, en el tiempo inicial y transcurridos 36 meses a partir de la elaboración de las formulaciones.

Determinación de la extensibilidad

Para determinar la extensibilidad de las dos formulaciones y de una formulación comercial (con fines comparativos) se tomaron dos láminas de vidrio de 15x15 cm. Se añadieron 2 g del semisólido, pesados en balanza técnica digital, en el centro de una de las placas ubicada sobre una hoja de papel milimetrado, posteriormente, se sobrepuso cuidadosamente la otra lámina de vidrio. Transcurridos 5 minutos se determinó la distancia desde el punto de aplicación hasta donde extendió el semisólido. Se midió la extensibilidad en 4 direcciones perpendiculares entre sí [19]. Se repitió esta operación adicionando pesos sucesivos de 50, 100, 200 y 300 g colocados en el centro de la placa superior. Las mediciones se hicieron por triplicado, los resultados registrados son el promedio y se graficaron las masas (g) contra el área de extensibilidad (cm²). Se calculó el área del círculo formado aplicando la ecuación 1.

$$E = A = p \times \frac{d_1 \times d_2}{4} \quad (1)$$

Donde: A : área (cm²), d_1 y d_2 : diámetros perpendiculares a la circunferencia formada (cm), y E : extensibilidad del semisólido.

Medición en reómetro

Se midió para los dos semisólidos en reómetro MCR 92 Anton Paar, a dos temperaturas 25 y 35 °C, por triplicado a los 36 meses de que las formulaciones fueron elaboradas.

Diseño experimental

La presente investigación corresponde a un diseño cuasi experimental, tomando en cuenta que no se manipulan variables deliberadamente, su tendencia es cualitativa con alcance descriptivo, el propósito fue evaluar la estabilidad preliminar que presentan las dos formulaciones semisólidas (crema y crema-gel) elaboradas a base del complejo de tinidazol sintetizado. En cuanto a la recolección de datos, se tomó la media y se calculó la desviación estándar de las mediciones hechas por triplicado. Para la interpretación de los resultados hay que considerar otros factores no tenidos en cuenta.

RESULTADOS

Características organolépticas

Su determinación y observación proporcionó una primera impresión de la calidad del semisólido. Estas características se evaluaron a las formulaciones recién elaboradas, después de 24 horas y a los 15 días de la preparación, para examinar homogeneidad, textura, consistencia, color y olor. La tabla 1 muestra los resultados de la prueba organoléptica inicial para los preparados semisólidos.

Tabla 1. Características organolépticas de crema y crema-gel.

Semisólido	Crema	Crema-gel
Tiempo 0	Semisólido de aspecto homogéneo, textura cerosa, cremosa y color verdoso.	Semisólido homogéneo, textura fluida, consistencia ligera y color verde intenso.
24 horas	Semisólido de aspecto homogéneo, textura cerosa, cremosa y color verdoso.	Semisólido homogéneo, textura fluida, consistencia ligera y color verde intenso.
15 días	Semisólido de aspecto homogéneo, textura cerosa, cremosa y color verdoso.	Semisólido homogéneo, textura fluida, consistencia ligera y color verde intenso.
36 meses	Semisólido de aspecto homogéneo, textura cerosa, cremosa y color verdoso.	Semisólido homogéneo, textura fluida, consistencia ligera y color verde intenso.

En la tabla 1 se puede apreciar que la crema y la crema-gel exhibieron un aspecto homogéneo, una textura cerosa para la crema y un color verdoso aportado por el complejo a diferencia de la crema-gel que presentó una textura fluida (figura 1), se apreció un cambio de color a uno más intenso en cuanto a la crema gel una vez transcurridos los 36 meses, de otro lado, la crema conserva su color inicial.

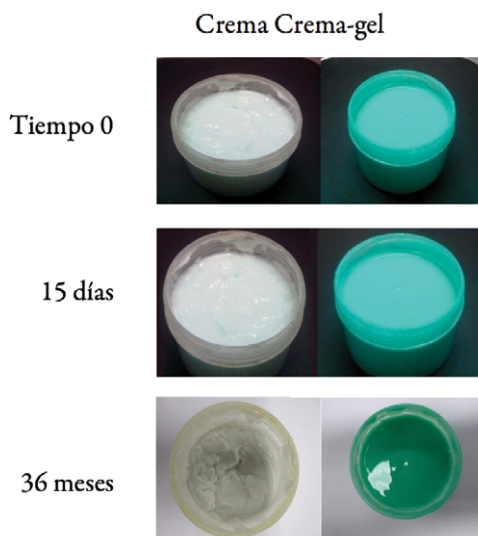


Figura 1. Fotografía de la crema y crema-gel, en los diferentes tiempos.

La crema mantuvo su color y la intensidad del mismo durante el tiempo de almacenamiento. Las propiedades organolépticas se conservaron hasta el tiempo final del estudio. La crema se describe como un semisólido de aspecto uniforme, libre de grumos y arenosidad y olor característico. Por otro lado, aunque no se detectaron grumos en la crema-gel ni otros síntomas relacionados con problemas de estabilidad física, si se observó un ligero cambio de color después de 36 meses.

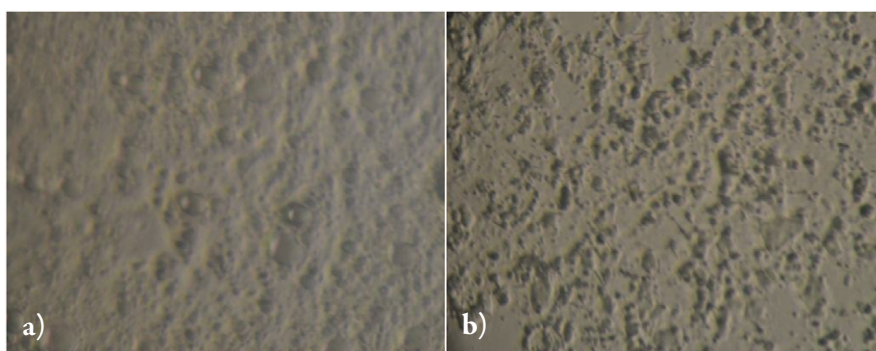


Figura 2. Microfotografía de los semisólidos: a) crema, b) crema-gel.

Las microfotografías de las formulaciones de la crema y la crema-gel con el activo incorporado se pueden apreciar en la figura 2. En la crema se observó una estructura con gotitas que corresponde a la fase oleosa, en la crema-gel estas gotas estaban ausentes, y se

observó una discontinuidad, debida a la incorporación de aire durante la preparación. Se pueden observar diferencias de los semisólidos con respecto a otros preparados, en la crema se ven diferenciadas las fases acuosa y oleosa, dándole características de fluidez y la capacidad de satisfacer las exigencias fisiológicas de la piel, liberar uniformemente materias hidrosolubles y liposolubles en la piel, a diferencia de las pomadas y ungüentos que constan de una sola fase en la que se dispersa sólidos o líquidos y no fluyen con facilidad.

Viscosidad y pH

Se determinó la viscosidad y el pH de los semisólidos, para la crema se obtuvo un resultado promedio de viscosidad de 65 983 cP y para la crema gel un valor de 30 321 cP a una temperatura de 22 °C, el valor de pH para la crema fue $5,60 \pm 0,01$, y para la crema-gel fue $6,00 \pm 0,01$. En la segunda medición después de quince días, la viscosidad de la crema dio un valor de 65 995 cP y pH de $5,40 \pm 0,01$, mientras que para la crema-gel el valor de viscosidad fue de 31432 cP y el pH de $5,91 \pm 0,01$. Transcurridos los 36 meses se obtuvo una viscosidad de 66 3617 cP y 37 612 cP a una temperatura de 22 °C, y valores de pH $5,20 \pm 0,01$ y $5,80 \pm 0,01$ para la crema y crema-gel, respectivamente.

Extensibilidad

Se midió el aumento de superficie que experimenta cierta cantidad del semisólido cuando se somete a la acción de una serie de pesos a intervalos fijos de tiempo. Se utilizó como control un semisólido comercial de buena extensibilidad. Los resultados se muestran en la figura 3.

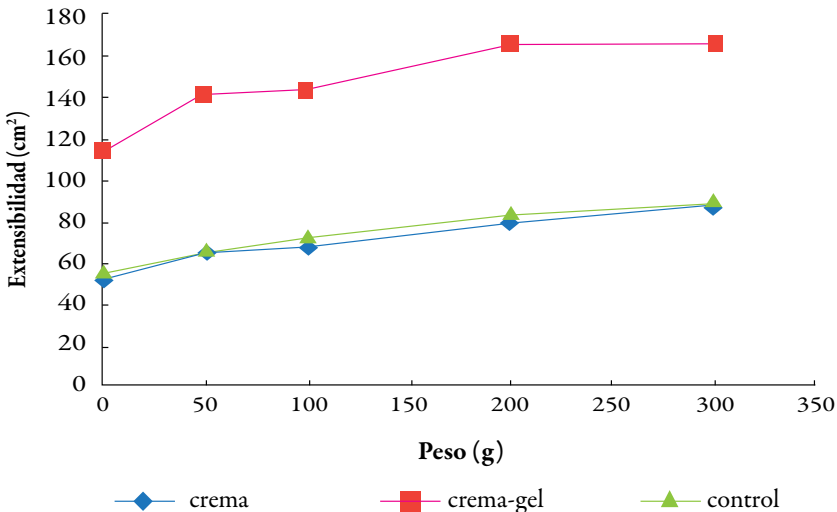


Figura 3. Gráfica de extensibilidad de los semisólidos y control.

Después de 36 meses, los resultados de esta medida se muestran en la figura 4. El área de extensibilidad mostró un ligero decrecimiento, con variaciones en los dos últimos pesos de 4,60 y 10,45 cm². Estos resultados fueron lógicos, ya que en las etapas iniciales ocurre la estructuración del sistema que tiene lugar de forma progresiva, lo cual se refleja en un aumento de la consistencia, expresado por la disminución del área de extensibilidad tanto para crema como la crema-gel.

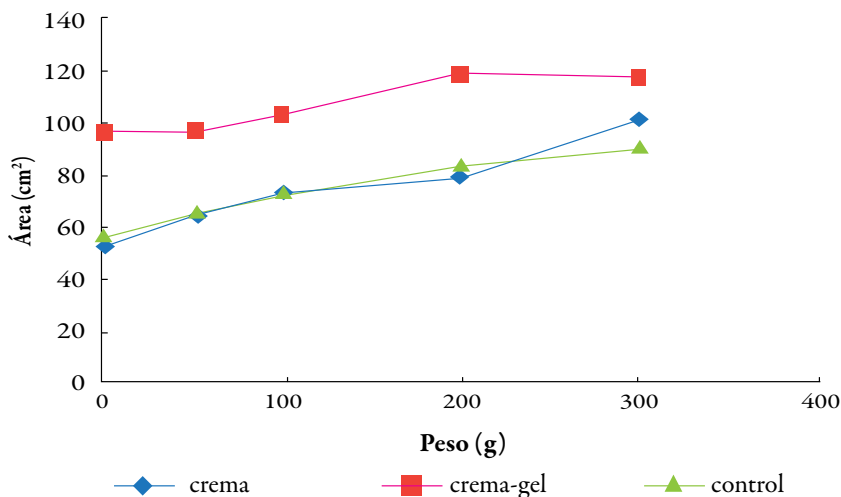


Figura 4. Gráfica de extensibilidad de los semisólidos después de 36 meses.

Tamaño de partícula

En relación con el tamaño de partícula, se hizo la medición de la crema con y sin complejo incorporado, esta medición sirvió de criterio para hacer una aproximación a la capacidad de penetración del semisólido a través de las diferentes capas de la piel, a continuación, en la figura 5 se muestra la determinación del tamaño de partícula para la crema.

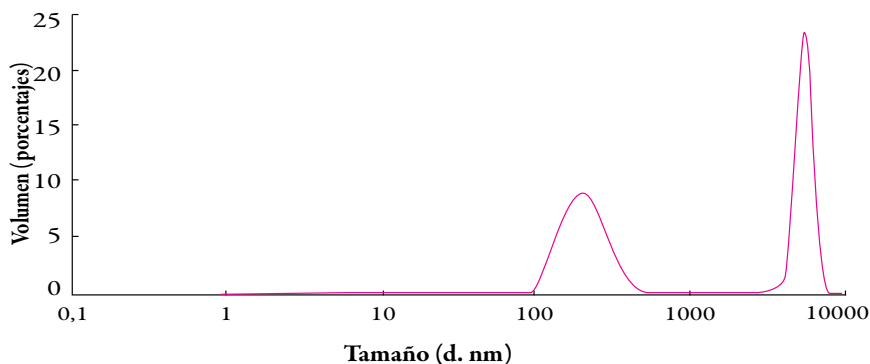


Figura 5. Resultado de la medición del tamaño de partícula en crema.

Hay dos poblaciones de partículas, como se observa en la figura 5, la primera con un tamaño de 216,5 nm y un porcentaje de 52,3 % y la segunda con 5590 nm y un porcentaje de 47,7 %, estos tamaños de partícula dieron un indicio del nivel de penetración dérmica, ya que diversos estudios señalan que existe una relación de permeación cutánea dependiente del tamaño de partícula, por ejemplo, algunos autores [20] notaron una mayor permeabilidad en piel de rata para nanopartículas de oro de 15 nm en comparación con partículas de oro de 102 y 198 nm y concluyeron que el coeficiente de permeabilidad a través de la piel era decreciente al aumentar el tamaño de partícula. Por su parte, otros autores [21], en su estudio para el uso de nanopartículas en vacunación transcutánea, informaron que las nanopartículas de 40 nm penetraron en la piel humana y entraron en la epidermis, pero no fue así para las de 750 o 1500 nm, mostrando la relación del tamaño de partículas en la absorción dérmica. Es importante tomar en cuenta este aspecto porque puede estimarse de acuerdo con el tamaño de partícula si el principio activo alcanza la circulación sistémica y así se puede evitar posibles efectos secundarios.

En esta investigación, en relación con el tamaño de partícula, esta medición se realizó después de 36 meses a los semisólidos, la determinación del tamaño de partícula para la crema fue de 347,9 nm y para la crema gel de 1004,7 nm, estos resultados sugieren que la crema sólo penetró hasta el estrato córneo, es decir, que no pasará más allá de la epidermis y evidenció la estabilidad de la crema.

Mediciones en reómetro

Se midió el flujo de los dos semisólidos a los 36 meses, a dos temperaturas 25 y 35 °C, las curvas se muestran en las figuras 6 y 7, respectivamente.

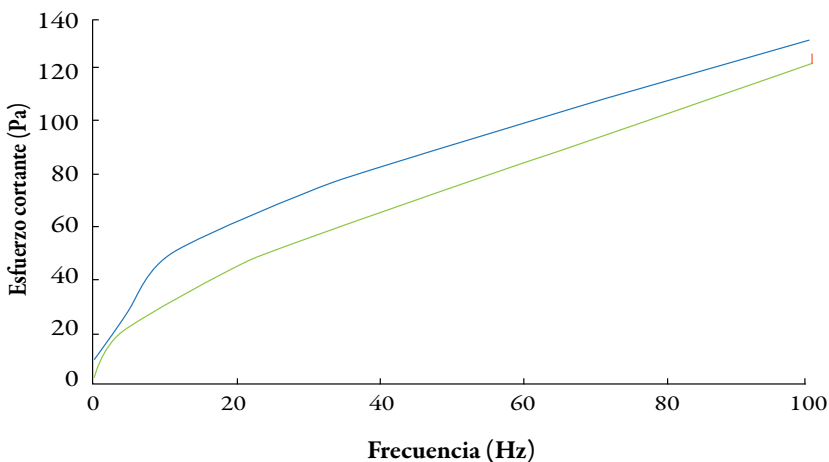


Figura 6. Gráfica de la curva de flujo a 25 °C para la crema después de 36 meses.

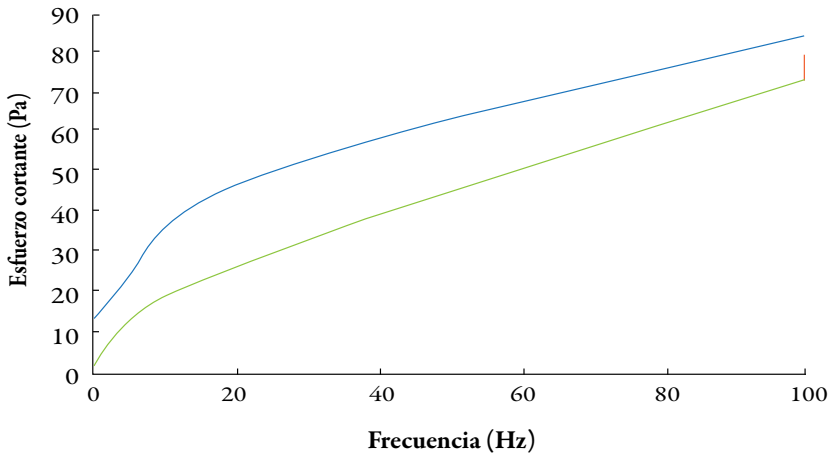


Figura 7. Gráfica de la curva de flujo a 35 °C para la crema después de 36 meses.

Con la curva de flujo los datos se ajustan a diferentes modelos reológicos, el modelo de Herschel-Bulkley es el que presenta el mejor ajuste y se relaciona con la ecuación 2:

$$Y = t_0 + kg^n \quad (2)$$

Donde Y es el esfuerzo cortante, t_0 es el esfuerzo umbral, k es el índice de consistencia, g es la tasa de corte y n es el índice del comportamiento al flujo. Cuando $n = 1$ se trata de fluidos newtonianos, cuando $n < 1$ se trata de fluidos pseudoplásticos, y cuando $n > 1$ se tiene comportamiento reopéctico.

Los parámetros ajustados del modelo a temperatura de 25 °C son: $t_0 = 1,5202$ Pa, $k = 7,1082$, $n = 6,61272$, y $r^2 = 0,99903$. Mientras que estos parámetros a 35 °C son: $t_0 = 3,0432$ Pa, $k = 2,955$, $n = 0,68853$, y $r^2 = 0,99884$. Para el área de histéresis a las mismas temperaturas los datos arrojados son: 1386,5 Pa/s a 25 °C y 1577,1 Pa/s a 35 °C.

Las curvas de flujo se realizan en tres fases: ascenso, mantenimiento y descenso. Con la curva de ascenso se evidencia el comportamiento de flujo de la formulación, luego la de mantenimiento se realiza a la mayor frecuencia posible buscando deformar la muestra y la de descenso evidencia si la muestra es capaz de recuperar su forma o si la pierde. Los resultados de la crema-gel se muestran en las figuras 8 y 9.

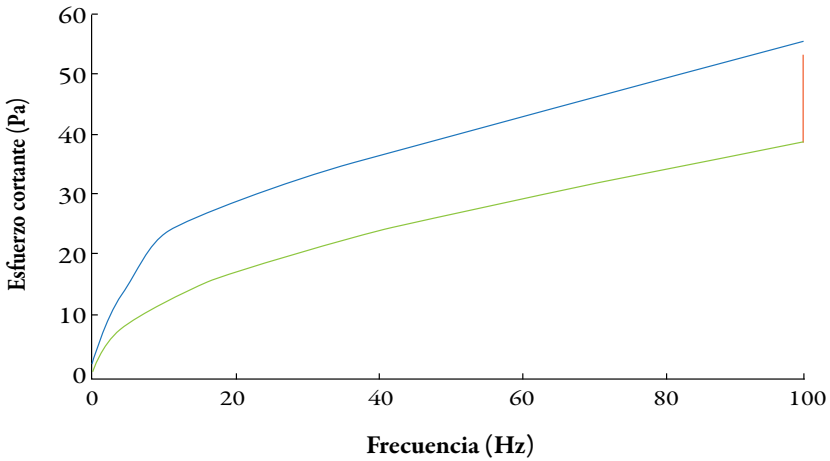


Figura 8. Gráfica de la curva de flujo a 25 °C para la crema gel después de 36 meses.

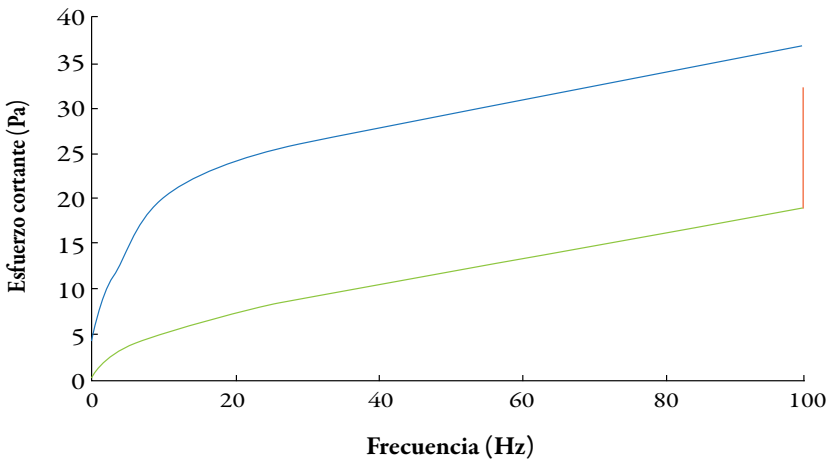


Figura 9. Gráfica de la curva de flujo a 35 °C para la crema gel después de 36 meses.

Con la curva de flujo los datos se ajustan a diferentes modelos reológicos, al igual que para la crema, el modelo que mejor se ajusta es el de Herschel-Bulkley (ecuación 2). Los parámetros ajustados del modelo a 25 °C son: $t_0 = 0,64822$ Pa, $k = 2,7165$, $n = 0,59642$, y $r^2 = 0,9901$. Mientras que los parámetros a 35 °C son: $t_0 = 0,25793$ Pa, $k = 1,2762$, $n = 0,5768$, y $r^2 = 0,9987$. Para el área de histéresis los datos arrojados son: 1651,6 Pa/s a 25 °C y 1288,9 Pa/s a 35 °C.

DISCUSIÓN

Una vez elaborados y almacenado, los dos semisólidos conservaron sus características de homogeneidad, textura, consistencia, color y olor, el cambio en la intensidad del color observado en la crema-gel se debió a que el carácter traslúcido del gel hace que el color del complejo sobresalga. Ambas formulaciones mostraron un buen comportamiento desde el punto de vista organoléptico, cabe resaltar que la crema presenta características organolépticas agradables y por su consistencia puede aplicarse fácilmente en diferentes zonas de la piel de acuerdo con la necesidad del paciente, además, la crema posee una buena extensibilidad que permite su fácil aplicación y distribución en la zona afectada. El pH de las formulaciones se ajustó de manera que no afectara el pH natural de la piel, conservando el manto ácido que sirve como barrera protectora. El seguimiento del pH indicó que este permanece estable y no alteraría el equilibrio natural de la piel. La conservación del pH es un factor de importancia, dado que una alcalinización de la formulación podría impedir la síntesis de lípidos esenciales de la epidermis y la piel perdería agua, deshidratándose y perdiendo la función de barrera protectora. El ensayo de extensibilidad proporcionó una medida del umbral de deformación del sistema. La extensibilidad es inversamente proporcional a la consistencia del semisólido y proporcional al peso aplicado. El comportamiento de la formulación en crema, en cuanto a este parámetro, se asemejó al de la crema usada como control lo que indica que aun con la incorporación del complejo presenta una extensibilidad aceptable para este tipo de formulaciones de uso tópico que requieren buena untuosidad y distribución homogénea en la zona afectada. Este estudio evidenció la estabilidad de la crema incluso tras 36 meses de almacenamiento, sin embargo, es recomendable realizar estudios complementarios de estabilidad para esta clase de semisólidos.

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS

1. Organización mundial de la salud (OMS), *Resistencia a los antibióticos*, URL: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>, consultado el 15 de febrero de 2018.
2. M. Sierra, A. Sanhueza, R. Alcántara, G. Sánchez, Antimicrobial evaluation of copper sulfate (II) on strains of *Enterococcus faecalis*. *In vitro* study, *Journal of Oral Research*, **2**(3), 114-118 (2013).

3. G. Grass, C. Rensing, M. Solioz, Metallic copper as an antimicrobial surface, *Applied and Environmental Microbiology*, **77**(5), 1541-1547 (2011).
4. R. Gyawali, S.A. Ibrahim, Synergistic effect of copper and lactic acid against *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7: a review, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **24**(1), 1-11 (2012).
5. J.J. Zeelie, T.J., McCarthy, Effects of copper and zinc ions on the germicidal properties of two popular pharmaceutical antiseptic agents cetylpyridinium chloride and povidone-iodine, *Analyst*, **123**(3), 503-507 (1998).
6. M. Arens, S. Travis, Zinc salts inactivate clinical isolates of herpes simplex virus *in vitro*, *Journal of Clinical Microbiology*, **38**(5), 1758-1762 (2000).
7. J.A. Fernández-Romero, C.J. Abraham, A. Rodriguez, *et al.*, Zinc acetate/carrageenan gels exhibit potent activity *in vivo* against high-dose herpes simplex virus 2 vaginal and rectal challenge, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **56**(1), 358-368 (2012).
8. J.-L. Sagripanti, L.B. Routson, A.C. Bonifacino, C.D. Lytle, Mechanism of copper-mediated inactivation of herpes simplex virus, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **41**(4), 812-817 (1997).
9. A. Clewell, M. Barnes, J.R. Endres, M. Ahmed, D.K.S. Ghambeer, Efficacy and tolerability assessment of a topical formulation containing copper sulfate and *Hypericum perforatum* on patients with herpes skin lesions: a comparative, randomized controlled trial, *Journal of Drugs in Dermatology*, **11**(2), 209-215 (2012).
10. G.H. Jameel, W.M. Al-Shamery, R.O. Hussain, *et al.*, Treatment of pityriasis versicolor by 2 % solution of copper sulfate, *Diyala Journal for Pure Sciences*, **10**(1), 129-134 (2014).
11. K.E. Sharquie, R.K. Hayani, W.S. Al-Dori, *et al.*, Treatment of pityriasis versicolor with topical 15 % zinc sulfate solution, *Iraqi Journal of Community Medicine*, **21**(1), 61-63 (2008).
12. Z. Zarrab, M. Zanardelli, A. Pietrzak, *et al.*, *European Handbook of Dermatological Treatments: Tine Versicolor*, Springer, Berlin, Germany, 2015.
13. H.B. Fung, T. Doan, Tinidazole: a nitroimidazole antiprotozoal agent, *Clinical Therapeutics*, **27**(12), 1859-1884 (2005).

14. K.L. Haas, K.J. Franz, Application of metal coordination chemistry to explore and manipulate cell biology, *Chemical Reviews*, **109**(10), 4921-4960 (2009).
15. C.H. Zhou, L.L. Gan, Y.Y. Zhang, F.F. Zhang, G.Z. Wang, L. Jin, R.X. Geng, Review on supermolecules as chemical drugs, *Science in China Series B: Chemistry*, **52**, 415-458 (2009).
16. C.H. Zhou, Y.Y. Zhang, C.Y. Yan, K. Wan, L.L. Gan, Y. Shi, Recent researches in metal supramolecular complexes as anticancer agents, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **10**(5), 371-395 (2010).
17. D.M. Martínez-Carmona, *Compuestos de coordinación de tinidazol con potencial efecto antimicrobiano y elaboración de una preformulación tópica*, Tesis de maestría, Universidad de Antioquia, Medellín, 2017.
18. D.M. Martínez-Carmona, G.E. Tobón-Zapata, J.S. Rivera-Villamizar, Estudio del potencial efecto antimicrobiano de algunos compuestos de coordinación de tinidazol, *Revista Cubana de Farmacia*, **51**(4) (2019), URL: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view>
19. D.M. Soler, Y. Rodríguez, T. Pérez, L. Sánchez, R. Lazo, *Extensibilidad en la preformulación de un gel a partir de Rhizophora mangle L.*, Memorias del III Simposio Internacional de Química, Sociedad Cubana de Química, La Habana, Cuba, 2007.
20. G. Sonavane, K. Tomoda, A. Sano, *et al.*, *In vitro* permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: Effect of particle size, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **65**(1), 1-10 (2008).
21. A. Vogt, B. Combadiere, S. Hadam, *et al.*, 40 nm, but not 750 or 1,500 nm, nanoparticles enter epidermal CD1a+ cells after transcutaneous application on human skin, *Journal of Investigative Dermatology*, **126**(6), 1316-1322 (2006).

COMO CITAR ESTE ARTÍCULO

D.M. Martínez-Carmona, G.E. Tobón-Zapata, Incorporación de un novedoso complejo de tinidazol con propiedades antimicrobianas a dos formas semisólidas de uso tópico, *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **50**(2), 490-504 (2021).