

# CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

## Informe Científico<sup>1</sup>

PERIODO <sup>2</sup>: 2015-2016

### 1. DATOS PERSONALES

*APELLIDO: Williams*

*NOMBRES: Patricia Ana María*

*Dirección Particular: Calle:*

*Localidad: Ringuelet CP: 1901 Tel:*

*Dirección electrónica (donde desea recibir información): williams@quimica.unlp.edu.ar*

### 2. TEMA DE INVESTIGACION

Estudio estructural, espectroscópico y determinación de actividades biológicas de complejos metálicos con compuestos bioactivos.

**PALABRAS CLAVE (HASTA 3)** Química Bioinorgánica; Cáncer; Hipertensión

### 3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

*INGRESO: Categoría: Investigador Independiente Fecha: 07/07/1998*

*ACTUAL: Categoría: Investigador Principal desde fecha: 20/10/2015*

### 4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

*Universidad y/o Centro: CEQUINOR-UNLP*

*Facultad: Ciencias Exactas*

*Departamento: Química*

*Cátedra: Química Inorgánica*

*Otros: -*

*Dirección: Calle: Boulevard 120 e/ 60 y 64 N°: 1465 (FCE: Calle: 47 esq 115)*

*Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 0221 445-4393*

*Cargo que ocupa: Investigador Principal-Profesor Titular DE*

### 5. DIRECTOR DE TRABAJOS (En el caso que corresponda)

*Apellido y Nombres:*

*Dirección Particular: Calle: N°:*

*Localidad: CP: Tel:*

*Dirección electrónica:*

.....  
Firma del Director (si corresponde)

.....  
Firma del Investigador

<sup>1</sup> Art. 11; Inc. "e"; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

<sup>2</sup> El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2017 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2015 al 31-12-2016, para las presentaciones bianuales. Para las presentaciones anuales será el año calendario anterior.

## **6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA**

*Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.*

La estrategia de este proyecto radica en mejorar las actividades de fármacos por modificación de su estructura mediante la complejación con metales de interés biológico generando un probable efecto sinérgico para combatir enfermedades de alta incidencia regional y nacional como la hipertensión y el cáncer. Los ligandos seleccionados son agentes antioxidantes naturales y fármacos antihipertensivos a partir de los cuales se sintetizan y caracterizan complejos de coordinación con los biometales Cu(II) y Zn(II) y el VO(IV) y realizan estudios biológicos para correlacionar entre familias de ligandos. Se trabaja en colaboración con grupos de investigación de nuestro país y del exterior. Los estudios consisten en medidas de capacidad secuestrante de radicales libres, estudios antimicrobianos sobre cepas en cultivo y de viabilidad celular y generación de radicales libres sobre líneas celulares tumorales y normales en cultivo, junto con la determinación de efectos antimetastásicos. Asimismo, se mide la interacción con el transportador biológico, albúmina sérica.

## **7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.**

*Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Se continuó con el estudio de la modificación estructural de agentes antioxidantes naturales y de fármacos antihipertensivos mediante la complejación con biometales y la determinación de su comportamiento biológico. Se sintetizaron y caracterizaron los complejos metálicos y en algunos casos se determinaron las bioactividades, las capacidades antioxidantes y los efectos antitumorales y antihipertensivos. Se introdujeron estudios de la interacción con la proteína de transporte, albúmina sérica y de toxicidad mediante el uso de *Artemia salina* y de actividades antimetastásicas. Se completaron y publicaron estudios del período anterior y se comenzaron otros que fueron comunicados en congresos nacionales e internacionales. Se amplió el estudio de fármacos con compuestos antidepresivos, antifúngicos y antitiroideos, en colaboración.

Se sintetizaron complejos de Cu(II) con los fármacos antihipertensivos irbesartan (inhibidor del sistema renina-angiotensina) y aliskiren (novedoso y primer representante de un fármaco inhibidor directo de la renina). Con el primero se realizaron estudios estructurales teóricos (DFT) y de la actividad antioxidante, antitumoral y antihipertensiva (8.1.6) y con la base de otros complejos de Cu-sartanes ya publicados se logró establecer una relación estructura-actividad antihipertensiva. El estudio del segundo complejo se está completando actualmente (14.12).

Se continuó con el estudio de la síntesis y estudio del comportamiento biológico de complejos entre el catión oxidovanadio(IV) y los agentes antioxidantes naturales, los flavonoides. En este período se seleccionaron los flavonoides naringenina (8.1.1), diosmina (8.1.5 y 14.5), luteolina (8.1.3 y 14.4) y baicalina (8.2.1 y 14.10). En todos los casos se determinaron efectos antioxidantes, antitumorales, mecanismos de acción y su interacción con la albúmina sérica bovina. En el caso particular del complejo de luteolina se realizó también el estudio de su actividad antimetastásica *in vitro* y con un modelo murino (*in vivo*) (8.1.7).

Se completó el estudio teórico de complejos con bases nitrogenadas, que sirven de modelo de las bases naturales, sobre el Cd(II) y el Zn(II) determinando su geometría y espectro vibracional y además se determinó su efecto biológico sobre cepas microbianas junto a docentes investigadores de la UNCAus (1.4.8 y 8.2.1), tema de la Tesis Doctoral de la Farm. Libertad López Tévez (Profesora de UNCAus) la cual fue presentada y aprobada en 2016.

Con respecto al fármaco sertralina (antidepresivo) se obtuvo un compuesto con el agente antioxidante ácido cumarín 3-carboxílico y se realizaron estudios estructurales,

de efectos antidepresivos *in vivo* y de biodisponibilidad (8.1.4 y 14.7) y se presentó una comunicación de la síntesis, biodisponibilidad y de los efectos antidepresivos *in vivo* de compuestos de  $[\text{CuCl}_4]^{2-}$  y  $[\text{ZnCl}_4]^{2-}$  con el catión sertralonio (14.11). Se seleccionó el ligando con efectos antidepresivos S-metil cisteína y se sintetizó el complejo con Zn (biometal con efectos antidepresivos) encontrando un aumento del efecto antidepresivo en los estudios sobre ratas (8.1.10, 14.3 y 14.9). Estos estudios dieron lugar a la Tesis Doctoral de la Farm. Graciela Escudero (Profesora de UNLaR) la cual fue presentada y aprobada en 2015.

Otros fármacos actualmente en estudio (en colaboración) son los agentes antitiroideos metimidazol y propil tiouracilo. Se realizó el estudio del complejo de Cu(II) con metimidazol y se publicaron los resultados de sus actividades enzimáticas y antifúngicas (8.1.8). Asimismo, se estudiaron las actividades biológicas del complejo sintetizado entre el Cu(II) y el ligando propil tiouracilo (8.1.9 y 1.4.1).

Se están completando los estudios del sistema Zn con ácido cumarín 3-carboxílico y fenantrolina junto a sus efectos antimicrobianos y enzimáticos (14.2) y se completó el estudio de complejos heterolépticos de Ag con el fármaco antifúngico albendazol y un segundo ligando nitrogenado, en colaboración con la Dra. Marcela Rizzotto (Profesora UNR) (8.1.11 y 1.4.6).

## 8. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

**8.1 PUBLICACIONES.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación. Asimismo, para cada publicación deberá indicar si se encuentra depositada en el repositorio institucional CIC-Digital*

**Publicaciones periódicas como autor principal. Diseño, redacción de manuscritos y ejecución en colaboración.** No se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital

**8.1.1.** María S. Islas, Luciana G. Naso, Luis Lezama, María Valcarcel, Clarisa Salado, Meritxell Roura-Ferrer, Evelina G. Ferrer, Patricia A. M Williams. "Insights into the mechanisms underlying the antitumor activity of an oxidovanadium(IV) compound with the antioxidant naringenin. Albumin binding studies." J. Inorg. Biochem. 149, 12-24 (2015).

**Abstract.** Naringenin, a natural antioxidant present in grapefruit, oranges and the skin of tomatoes showed low antioxidant properties among other flavonoids due to its structural characteristics. Since many flavonoids were shown to have cell-killing and antioxidant activities, naringenin was investigated herein. In parallel with its antioxidant activities the flavonoid showed very low cytotoxicity at concentrations up to 100  $\mu\text{M}$  against lung (A549) and breast (SKBr3 and MDAMB231) cancer cell lines. Furthermore, a newly-synthesized and characterized complex of naringenin and oxidovanadium(IV) ( $[\text{V}^{\text{V}}\text{O}(\text{nar})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , VOnar, with weak ferromagnetic coupling) was also studied. As a result, VOnar acted as a better compound on cell-killing and antioxidant activities (in vitro) than naringenin. The anti-proliferative effect of VOnar was accompanied by reactive oxygen species (ROS) generation, cell membrane and DNA damages, cell cycle arrest, caspase 3/7 activation and mitochondrial potential reduction. The higher parameters

observed for the MDAMB231 cell line have been related to its low glutathione (GSH) content. The assays of the interaction of bovine serum albumin (BSA) with the complex showed the affinity of protein toward it and that there is only one binding site on the BSA molecule. However, metal complexation decreased the binding affinity to BSA of naringenin probably due to a steric hindrance of the complex.

**8.1.2.** Juan J. Martínez Medina, Carola A. Torres, Walter S. Alegre, Carlos A. Franca, Libertad L. López Tévez, Evelina G. Ferrer, Nora B. Okulik, Patricia A.M. Williams. "DFT calculations, *in vitro* antifungal activity, genotoxic effects and acute toxicity of the  $[Zn(phen)_2(cnge)(H_2O)](NO_3)_2 \cdot H_2O$  complex." J. Mol Struct., 1100, 366-375 (2015).

**Abstract.** Calculations based on density functional methods were carried out for the  $[Zn(phen)_2(cnge)(H_2O)](NO_3)_2 \cdot H_2O$  complex taking into account the presence of two different conformers for the cyanoguanidine ligand. The calculated geometrical parameters and the vibrational IR and Raman spectra were in agreement with the experimental data. On the other hand, the activities of the complex, the ligands and the metal against fungal strains have been measured. The complexation increased the antifungal activity of the metal and the ligand cyanoguanidine, and slightly decreased the antifungal activity of the ligand 1,10-phenanthroline against *Candida albicans*, *C. albicans* ATCC 10231 and *Candida krusei* (not against the others strains of *Candida*). The ligand 1,10-phenanthroline and the zinc complex showed in some cases higher activity than the common antifungal drug fluconazole. The complexation also increased the postantifungal effect in the tested strains, except for *Candida parapsilosis*, even with a better efficiency than those of some conventional antifungal agents. Antifungal studies were coupled with safety evaluations using the *Artemia salina* and the Ames tests. The zinc complex behaved as a non-mutagenic and nontoxic compound at the tested concentrations. Moreover, the zinc complex could be safer than the ligand when used as an antifungal agent. Therefore, the interaction of zinc(II) with N-containing ligands may provide a promising strategy for the development of novel and more secure drugs with antifungal activity.

**8.1.3.** Luciana G. Naso, Luis Lezama, María Valcarcel, Clarisa Salado, Patricia Villacé, Danel Kortazar, Evelina G. Ferrer, Patricia A.M. Williams "Bovine serum albumin binding, antioxidant and anticancer properties of an oxidovanadium(IV) complex with luteolin" J. Inorg. Biochem. 157, 80-93 (2016).

**Abstract.** Chemotherapy using metal coordination compounds for cancer treatment is the work of the ongoing research. Continuing our research on the improvement of the anticancer activity of natural flavonoids by metal complexation, a coordination compound of the natural antioxidant flavone luteolin (lut) and the oxidovanadium(IV) cation has been synthesized and characterized. Using different physicochemical measurements some structural aspects of  $[VO(lut)(H_2O)_2]Na \cdot 3H_2O$  (VOLut) were determined. The metal coordinated to two cis-deprotonated oxygen atoms ( $ArO^-$ ) of the ligand and two  $H_2O$  molecules. Magnetic measurements in solid state indicated the presence of an effective exchange pathway between adjacent vanadium ions. VOLut improved the antioxidant capacity of luteolin only against hydroxyl radical. The antitumoral effects were evaluated on MDAMB231 breast cancer and A549 lung cancer cell lines. VOLut exhibited higher viability inhibition ( $IC_{50}=17 \mu M$ ) than the ligand on MDAMB231 cells but they have the same behavior on A549 cells (ca.  $IC_{50}=60 \mu M$ ). At least oxidative stress processes were active during cancer cell-killing. When metals chelated through the carbonyl group and one adjacent OH group of the flavonoid an effective improvement of the biological properties has been observed. In VOLut the different coordination may be the cause of the small improvement of some of the tested properties of the flavonoid. Luteolin and VOLut could be distributed and transported *in vivo*. Luteolin interacted in the microenvironment of the tryptophan group of the serum binding protein, BSA, by means of electrostatic forces and its complex bind the protein by H bonding and van der Waals interactions.

**8.1.4.** Graciela E. Escudero, Carlos H. Laino, Gustavo A. Echeverría, Oscar E. Piro, Nancy Martini, Ailén N. Rodríguez, Juan J. Martínez Medina, Libertad L. López Tévez, Evelina G. Ferrer, Patricia A.M. Williams. "Improving the antidepressant action and the bioavailability of sertraline by co-crystallization with coumarin 3-carboxylate. Structural determination". *Chem Biol-Interact*, 249, 46-55 (2016).

**Abstract.** To improve the antidepressant action of sertraline a new salt with coumarin-3-carboxylate anion (SerHCCA) has been synthesized by two different methods and characterized by FTIR spectroscopy and structural determinations by X-ray diffraction methods. The new salt is stabilized by strong intermolecular H-bonds involving the protonated amine group of SerH and the deprotonated carboxylate group of CCA. These findings can be correlated with the interpretation of the infrared spectrum. The salt, sertraline (SerHCl) and the sodium salt of coumarin-3-carboxylate (NaCCA) were orally administered male Wistar rats (10 mg/kg, based on sertraline). Rats were evaluated in separate groups by means of the forced swimming (FST). SerH-CCA produced antidepressant effects in a magnitude that exceeded SerHCl individual effects. None of these treatments affected activity levels by the open field OFT tests. We have also determined that the ion pair also improve the binding to bovine serum albumin (BSA) of the drug but retain its antimicrobial activity. It is reasonable to conclude that the replacement of chloride anion by a large organic anion in sertraline strengthens the pharmacological action of the native drug, binding to BSA with higher activity and retaining the antimicrobial activity of the antidepressant compound.

**8.1.5.** L.G. Naso, V.R. Martínez, L. Lezama, C. Salado, M. Valcarcel, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams, "Antioxidant, anticancer activities and mechanistic studies of the flavone glycoside diosmin and its oxidovanadium(IV) complex. Interactions with bovine serum albumin" *Bioorg. Med. Chem.*, 24, 4108-4119 (2016).

**Abstract.** The natural antioxidant flavonoid diosmin, found in citric fruits, showed low antioxidant properties among other flavonoids due to its structural characteristics and low cytotoxicity against lung (A549) and breast (T47D, SKBR3 and MDAMB231) cancer cell lines. The anticancer behavior has been improved by the metal complex generated with the flavonoid and the oxidovanadium(IV) ion. This new complex,  $[\text{VO}(\text{dios})(\text{OH})_3]\text{Na}_5 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (VOdios), has been synthesized and characterized both in solid and solution states. The interaction of the metal ion through the sugar moiety of diosmin precluded the improvement of the antioxidant effects. However, the cell-killing effects tested in human lung A549 and breast T47D, SKBR3 and MDAMB231 cancer cell lines, were enhanced by complexation. The anti-proliferative effects on the human lung cancer cell line were accompanied by cellular ROS generation and an increase in cytoplasm condensation. The breast cancer cell lines did not produce caspase3/7 activation, mitochondrial potential reduction and ROS generation. Therefore, a non-apoptotic form of cell death in a caspase and oxidative stress-independent manner has been proposed. The protein binding ability has been monitored by the quenching of tryptophan emission in the presence of the compounds using bovine serum albumin (BSA) as a model protein. Both compounds could be distributed and transported in vivo and the complex displayed stronger binding affinity and higher contributions to the hydrogen bond and van der Waals forces.

**8.1.6.** M.S. Islas, A. Luengo, C.A. Franca, M. Grier Merino, L. Calleros, M. Rodriguez-Puyol, L. Lezama, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams. Experimental and DFT characterization, antioxidant and anticancer activities of a Cu(II)-irbesartan complex. Structure-antihypertensive activity relationships in Cu(II)-sartan complexes. *J. Biol. Inorg. Chem*, 21, 851-863 (2016).

**Abstract.** The coordination compound of the antihypertensive ligand irbesartan (irb) with copper(II) (CuIrb) was synthesized and characterized by FTIR, FT-Raman, UV-visible, reflectance and EPR spectroscopies. Experimental evidence allowed the implementation of structural and vibrational studies by theoretical calculations made in the light of the Density Functional Theory (DFT). This compound was designed to induce structural modifications on the ligand. No antioxidant effects were displayed by both compounds,

though Culrb behaved as a weak 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH') scavenger ( $IC_{50} = 425 \mu M$ ). The measurements of the contractile capacity on human mesangial cell lines showed that Culrb improved the antihypertensive effects of the parent medication. *In vitro* cell growth inhibition against prostate cancer cell lines (LNCaP and DU 145) was measured for Culrb, irbesartan and copper(II). These cell lines have been selected since the angiotensin II type 1 (AT1) receptor (that was blocked by the angiotensin receptor blockers, ARB) has been identified in them. The complex exerted anticancer behavior (at  $100 \mu M$ ) improving the activity of the ligand. Flow cytometry determinations were used to determine late apoptotic mechanisms of cell death.

**8.1.7.** L.G. Naso, I. Badiola, J. Marquez Clavijo, M. Valcarcel, C. Salado, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams. "Inhibition of the metastatic progression of breast and colorectal cancer *in vitro* and *in vivo* in murine model by the oxidovanadium (IV) complex with luteolin" *Bioorg. Med. Chem.*, 24, 6004-6011 (2016).

**Abstract.** The anticancer and antimetastatic behavior of the flavonoid luteolin and its oxidovanadium(IV) complex  $[VO(lut)(H_2O)_2]Na \cdot 3H_2O$  (VOlut) has been investigated. Considering that the complex displayed strong anticancer activity on MDAMB231 human breast cancer cell line we herein determined through *in vitro* assays that the complex would probably reduce breast cancer cell metastasis in a higher extent than the natural antioxidant. In the CT26 colon cancer cell line a stronger anticancer effect has also been determined for the complex ( $IC_{50} 0.9 \mu M$ ) and in addition it did not exert toxic effects on normal colon epithelial cells at concentrations up to  $10 \mu M$ . Working with a murine model of highly aggressive, orthotopic colon cancer model (CT26 cancer cell lines) it has been determined that the complex might prevent metastatic dissemination of the colon cancer cells to the liver. The flavonoid luteolin also exerted anticancer effects (at a low degree,  $IC_{50} 5.9 \mu M$ ) on CT26 cell line and produced a 24% reduction of colon cancer liver metastasis.

**Publicaciones periódicas con participación en diseño, ejecución y redacción de manuscritos.** No se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital

**8.1.8.** Nora M. Urquiza, María S. Islas, Santiago T. Ariza, Nadir Jori, Juan J. Martínez Medina, Martín J. Lavecchia, Leonor L. López Tévez, Luis Lezama, Teófilo Rojo, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer. Anti-thyroid and antifungal activities, BSA interaction and acid phosphatase inhibition of methimazole copper(II) complexes. *Chem. Biol. Int.*, 229, 64-72 (2015).

**Abstract.** It has been reported that various metal coordination compounds have improved some biological properties. A high activity of acid phosphatase (AcP) is associated to several diseases (osteoporosis, Alzheimer's, prostate cancer, among others) and makes it a target for the development of new potential inhibitors. Anti-thyroid agents have disadvantageous side effects and the scarcity of medicines in this area motivated many researchers to synthesize new ones. Several copper(II) complexes have shown antifungal activities. In this work we presented for a first time the inhibition of AcP and the anti-thyroid activity produced by methimazole-Cu(II) complexes. Cu-Met ( $[Cu(MeimzH)_2(H_2O)_2](NO_3)_2 \cdot H_2O$ ) produces a weak inhibition action while Cu-Met-phen ( $[Cu(MeimzH)_2(phen)(H_2O)_2]Cl_2$ ) shows a strong inhibition effect ( $IC_{50} = 300 \mu M$ ) being more effective than the reported behavior of vanadium complexes. Cu-Met-phen also presented a fairly good anti-thyroid activity with a formation constant value,  $K_c = 1.02 \times 10^{10} M^{-1}$  being  $10^5$  times more active than methimazole ( $K_c = 4.16 \times 10^4 M^{-1}$ ) in opposition to Cu-Met which presented activity ( $K_c = 9.54 \times 10^3 M^{-1}$ ) but in a lesser extent than that of the free ligand. None of the complexes show antifungal activity except Cu-phen (MIC =  $11.71 \mu g/mL$  on *Candida albicans*) which was tested for comparison. Besides, albumin interaction experiments denoted high affinity toward the complexes and the calculated binding constants indicate reversible binding to the protein.

**8.1.9.** Nora M. Urquiza, Luciana G. Naso, Juan J. Martínez Medina, María A. Moyano, Luis Lezama, Patricia A. M. Williams, Evelina G. Ferrer. "Pharmacological

activities of propylthiouracil compound structurally modified by coordination with copper(II).” J. Coord. Chem. 69 1293-1312 (2016).

**Abstract.** For the first time, pharmacological activities for propylthiouracil (actually used as antithyroid drug) were determined. In addition, a new propylthiouracil copper(II) complex ( $[\text{Cu}(\text{PTU})_2]_2$ ) was synthesized and characterized by FTIR, EPR, UV-visible and diffuse reflectance spectroscopies including elemental analysis, dissolution profiles and stability studies. Taking into account the correlation between Graves' disease and the formation of reactive oxygen species (ROS) and other free radicals, the ligand and the complex were tested for their antioxidant effects on  $\text{O}_2^{\cdot-}$  and  $\text{OH}^{\cdot}$  radicals. A significant increase in the disruption of  $\text{OH}^{\cdot}$  radical was observed for PTU and its copper(II) complex, but they did not show the ability to dismutate the  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radical. Antimicrobial activities were also determined observing that the complex is very active against Gram-positive bacteria. In addition, the ability of PTU and its complex to inhibit acid and alkaline phosphatases were analyzed. Results showed that PTU had no effect while the complex behaved as a potent ALP inhibitor. Finally, albumin interaction experiments denoted high affinity towards the complex in contrast with PTU with a constant binding value two hundred times higher than the ligand and bearing two binding sites. Based on this study, it has been hypothesized that  $[\text{Cu}(\text{PTU})_2]_2$  would be a promising candidate for further evaluation as an antioxidant, antimicrobial and phosphatase alkaline inhibitor agent.

**8.1.10.** Graciela E. Escudero, Nancy Martini, Khalil Jori, Nadir Jori, Nahuel R. Maresca, Carlos H. Laino, Luciana G. Naso, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer. “Biological activities of Zn(II)-S-methyl-cysteine complex as antiradical, inhibitor of acid phosphatase enzyme and in vivo antidepressant effects.” J. Enzyme Inhibit. Med. Chem. 69, 1293-1312 (2016).

**Abstract.** The antidepressant-like effect of simple Zn(II) salts has been proved in several animal models of depression. In this study, a coordination metal complex of Zn(II) having a sulfur containing ligand is tested as antidepressant for the first time. Forced swimming test method on male Wistar rats shows a decrease in the immobility and an increase in the swimming behavior after treatment with  $[\text{Zn}(\text{S-Met})_2]$  (S-Met=S-methyl-L-cysteine) being more effective and remarkable than  $\text{ZnCl}_2$ . The thiobarbituric acid and the pyranine consumption (hydroxyl and peroxy radicals, respectively) methods were applied to evaluate the antioxidant activity of S-Met and  $[\text{Zn}(\text{S-Met})_2]$  showing evidence of attenuation of hydroxyl but not peroxy radicals activities. UV-vis studies on the inhibition of acid phosphatase enzyme (AcP) demonstrated that S-methyl-L-cysteine did not produce any effect but, in contrast,  $[\text{Zn}(\text{S-Met})_2]$  complex behaved as a moderate agent. Finally, bioavailability studies were performed by fluorescence spectroscopy denoting the ability of the albumin to transport the complex.

**8.1.11.** C. Giulidori, N. Mosconi, B. Toplikar, M. Vega, P. Williams, L. Svetaz, M. Raimondi, M. Rizzotto. “Heteroleptic complexes of antifungal drugs with the silver ion” J. Phys. Org. Chem. 29, 656–664 (2016).

**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 (alb) with  $\text{Ag}(\text{I})$ , using  $\text{KSCN}$  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.

**8.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN.** Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada

*trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

**Publicaciones periódicas como autor principal. Diseño, redacción de manuscritos y ejecución en colaboración.** No se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital

**8.2.1.** J.J. Martinez Medina, L.G. Naso, A.L. Pérez, A. Rizzi, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams. "Antioxidant and anticancer effects and bioavailability studies of the flavonoid baicalin and its oxidovanadium(IV) complex" J. Inorg. Biochem., 166, 150-161 (2017).

**Abstract.** Based on the known antioxidant effect of flavonoids, baicalin (baic) found in roots of *Scutellaria* has been selected. Its coordination complex with the oxidovanadium(IV) cation,  $\text{Na}_4[\text{VO}(\text{baic})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{baic})$ ), was synthesized at pH 9 in ethanol and characterized by physicochemical methods. Spectrophotometric studies at pH 9 showed a ligand: metal stoichiometry of 2:1. By vibrational spectroscopy a coordination mode through the cis 5-OH and 6-OH deprotonated groups is inferred. EPR spectroscopy shows an environment of four aryloxy ( $\text{ArO}^-$ ) groups in the equatorial plane of the  $\text{V}=\text{O}$  moiety, both in solution and in the solid complex. The antioxidant capacity against superoxide and peroxy radicals of  $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{baic})$  resulted greater than for baicalin and correlated with previous results obtained for other VOflavonoid complexes. The coordination mode produces delocalization of the electron density and the stabilization of the radical formed by interaction with external radicals. The complex and the ligand displayed no toxic (*Artemia salina* test) and no mutagenic (Ames test) effects. The complex improved the ability of the ligand to reduce cell viability of human lung cancer cell lines (A549) generating reactive oxygen species (ROS) in cells, being this effect reversed by pre-incubation of the cells with antioxidants such as vitamins C and E. The addition of NAC (N-acetyl-L-cysteine, a sequestering agent of free radicals) suppresses the anticancer effect, confirming the oxidative stress mechanism. The complex interacted with bovine serum albumin (BSA) with stronger binding than baicalin and the mechanisms involved H bonding and van der Waals interactions.

**8.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.** *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

**8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.** *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

**8.5 COMUNICACIONES.** *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

**8.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS.** *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

## **9. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.**

**9.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS.** *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

**9.2 PATENTES O EQUIVALENTES** *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

**9.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO.** *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

**9.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES** *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

**9.5** *Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.*

**10. SERVICIOS TECNOLÓGICOS.** *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

**11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:**

**11.1 DOCENCIA**

**11.2 DIVULGACIÓN**

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

**12. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES.** *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

01/04/13-31/03/2015. CEQUINOR-UNLP-CONICET. Dirección de la Beca Tipo II, CONICET, de la Lic. Soledad Islas. Título: "Estudio estructural, espectroscópico y determinación de actividades biológicas de complejos metálicos con compuestos bioactivos".

01/04/2015-actual. CEQUINOR-UNLP-CONICET. Dirección de la Beca Postdoctoral, CONICET, de la Lic. Soledad Islas. Resolución N° 4932. Título: Propiedades biológicas de nuevos complejos de coordinación de cobre con fármacos antihipertensivos. Aplicación de la espectroscopía de EPR a la caracterización y determinación de la capacidad antioxidante.

01/04/14-actual. CEQUINOR-UNLP-CONICET. Dirección de la Beca Interna doctoral, CONICET, del Farm. Juan José Martínez Medina, con lugar de trabajo UNCAUS. Título: "Síntesis, caracterización fisicoquímica, determinaciones biológicas (in vitro) y estudios teóricos de complejos de Cu(II) y VO(IV) con ligandos antioxidantes y/o antimicrobianos."

01/09/2014-31/08/2015; CIN. Dirección de beca de estímulo a las vocaciones científicas de Alegre, Walter Sergio. Carrera/PI: Farmacia PI 25. UNCAUS. Título: "Actividad antimicótica, efecto post-antimicótico y cálculos teóricos del complejo de Cadmio con cianoguanidina y ortofenantrolina". Codirector: Martínez Medina, Juan José.

01/09/2015-31/08/2016; CIN. Dirección de beca de estímulo a las vocaciones científicas de Rodríguez, Ailén Natalí. Resolución C.E. N° 1082/15. Carrera/PI: Farmacia PI 25. UNCAUS. Título: "Determinación de efectos anti- y post-antimicrobianos y de inhibición enzimática de complejos de biometales con fármacos antihipertensivos". Codirector: López Tévez, Libertad Leonor.

01/04/2015- actual. CEQUINOR-UNLP-CONICET. Dirección de la Beca Inicial asociada a PICT 2013 de ANPCyt de la Bioquímica Valeria Martínez con el título: Preparación, caracterización y determinación de bioactividades de complejos de coordinación con biometales y ligandos con actividad biológica.

01/04/2015- actual. CEQUINOR-UNLP-CONICET. Co-dirección de la Beca interna doctoral de CONICET de la Biotecnóloga Nancy Martini. Título: Compuestos con potenciales aplicaciones en terapias antidepresivas y antitiroideas. Elaboración, caracterización y determinación de actividades biológicas "*in vitro*" e "*in vivo*".

Dirección de la Dra. Luciana G. Naso en la Carrera del Investigador del CONICET en la categoría de Investigador Asistente (Fecha y clase de ingreso: 08/04/2014 (Res. 2824, DN°1040)). Lugar de trabajo: CEQUINOR-UNLP-CONICET. Título: "Complejación de flavonoides con el catión oxovanadio(IV) con el fin de potenciar sus efectos biológicos."

**13. DIRECCION DE TESIS.** *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

Dirección de la Tesis Doctoral de la Farmacéutica Graciela Escudero a partir del 26 de agosto de 2009, Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Resolución N0 345/15- Reconocimiento de Equivalencia entre Director y Co-Director de acuerdo a lo establecido en los artículos 7 y 12 de la Reglamentación interna de la Facultad de Ciencias Exactas vigente entre los años 2003-2011. Título: "Diseño, síntesis y evaluación de actividades *in vitro* de nuevos compuestos con potenciales aplicaciones biológicas y/o farmacológicas".

**Finalizada** (y aprobada con sobresaliente, 10) el 04 de diciembre de 2015.

Dirección de la Tesis Doctoral de la Farmacéutica Libertad Leonor López Tévez desde el 30-11-02, Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Suspensión de la misma a partir de octubre 2008 por razones particulares y reanudación a partir de 08-05-2014. Título: "Estudio de complejos metálicos con ligandos de interés biológico". Parte de la Tesis se realizará en la UNNE, Saenz Peña.

**Finalizada** (y aprobada con sobresaliente, 10) el 5 de octubre de 2016.

Dirección conjunta de la Tesis Doctoral del Farm. Juan José Martínez Medina a partir del 27 de mayo de 2014, Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Título: "Síntesis, caracterización fisicoquímica, determinaciones biológicas (*in Vitro*) y estudios teóricos de complejos de Cu(II) y VO(IV) con ligandos antioxidantes y/o antimicrobianos". Exp. 700-016896/000-2013. Res 0889.

Dirección conjunta de la Tesis Doctoral de la Lic. Nancy Martini a partir del 09 de junio de 2015, Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Título: "Potenciales aplicaciones en terapias antidepresivas y antitiroideas Elaboración, caracterización y determinación de actividades biológicas *in vitro* e *in vivo*". Exp N° 700-00004056/000-2015. Res 1294.

Dirección conjunta de la Tesis Doctoral de la Bioqca. Valeria Marínez a partir del 23 de octubre de 2015, Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Título: "Búsqueda de nuevos fármacos antitumorales y antihipertensivos. Modificación estructural de flavonoides y de fármacos antihipertensivos por complejación con VO(IV), Zn(II) y Cu(II)." Exp: 0700-004996/15-000. Res: 2464.

**14. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.** *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

**Conferencia Semiplenaria.**

XI Reunión Anual de la Asociación Argentina de Cristalografía. 4 al 6 de noviembre de 2015, La Plata, Título: "Modificación estructural de fármacos y síntesis de sistemas biomiméticos con biometales para mejorar propiedades biológicas".

**Comunicaciones en forma de poster**

14.1. XIX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires. 12-15 de abril 2015. Efectos inhibitorios del complejo [Cu(PTU)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (PTU=propiltiouracilo) sobre fosfatasa ácida (AcP) y alcalina (ALP) y estudios de interacción con albúmina sérica bovina. Evelina G. Ferrer, Nora M. Urquiza, Luciana G. Naso, Patricia A.M. Williams.

14.2. XIX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires. 12-15 de abril 2015. Efectos antimicrobianos y actividad fosfatasa alcalina del sistema Zn/cumarin-3-carboxilato/fenantrolina. María S. Islas; Juan J. Martínez Medina; Evelina G. Ferrer; Patricia A.M. Williams.

14.3. XIX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires. 12-15 de abril 2015. Actividad antidepresiva y efectos inhibitorios sobre fosfatasa ácida del complejo Zn(S-metil-cisteína)<sub>2</sub> Graciela E. Escudero, Khalil Jori, Nadir Jori, Nancy Martini, Carlos H. Laino, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer..

14.4. XIX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires. 12-15 de abril 2015. Efectos antioxidantes y sobre la línea tumoral A549 del flavonoide luteolin y de su complejo con el catión VO(IV)<sup>2+</sup>. Patricia A.M. Williams; Luciana G. Naso; Evelina G. Ferrer

14.5. XIX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Buenos Aires. 12-15 de abril 2015. Actividad antitumoral y antioxidante de un nuevo complejo entre el catión V(IV)O<sup>2+</sup> y la flavona diosmina. L.G. Naso, C. Salado, M. Valcarcel, M. Roura-Ferrer, L. Lezama, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

14.6. 13<sup>a</sup> Conferencia Latinoamericana de Físico-Química Orgánica. 13th Latin American Conference on Physical Organic Chemistry, Carlos Paz, Córdoba. 17-21 de mayo 2015. "Heteroleptic complexes of antifungal drugs with the silver ion". C. Giulidori, N. Mosconi, B. Toplikar, M. Vega, P.A.M. Williams, L. Svetaz, M. Raimondi, M. Rizzotto.

14.7. III Congreso de Bioquímicos del Litoral, XVI Jornadas Argentinas de Microbiología. 5-7 de agosto de 2015. Santa Fe, Argentina. "Determinación de la

actividad antimicrobiana del fármaco antidepresivo sertralina y su par iónico cumarin-3-carboxilato de sertralonio.” A.N Rodríguez, J.J. Martínez Medina, L.L. López Tévez, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

14.8. III Congreso de Bioquímicos del Litoral, XVI Jornadas Argentinas de Microbiología. 5-7 de agosto de 2015. Santa Fe, Argentina. “Determinación de la actividad antifúngica del complejo de Cadmio con cianoguainida y orto-fenantrolina [Cd(o-phen)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)(H<sub>2</sub>O)](cngc).5H<sub>2</sub>O.” W.S. Alegre, J.J. Martínez Medina, L.L. López Tévez, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

14.9. 5° Simposio Latinoamericano de Química de Coordinación y Organometálica. 18-23 de agosto de 2015. Río de Janeiro, Brasil. “Novel anti-depressant activity in male Wistar rats model of Zn(II)-S-methyl-cysteine complex, its in vitro antiradical activity and the inhibitory effect on acid phosphatase.” Evelina Ferrer, Graciela Escudero, Nancy Martini, Khalil Jori, Nadir Jori, Nahuel Maresca, Carlos Laino, Patricia Williams

14.10. 13th European Biological Inorganic Chemistry (EuroBIC 13) 24 de agosto-2 de septiembre de 2016. Budapest, Hungría. “Antioxidant and anticancer effects and bioavailability studies of the flavonoid baicalin and the oxidovanadium(IV) complex.” Juan J. Martínez Medina; Luciana G. Naso; Alberto Rizzi; Evelina G. Ferrer; Patricia A.M. Williams.

14.11. 13th European Biological Inorganic Chemistry (EuroBIC 13) 24 de agosto-2 de septiembre de 2016. Budapest, Hungría. “Antidepressant activity of sertraline derived compounds.” Nancy Martini, Graciela E. Escudero, Nahuel R. Maresca, Carlos H. Laino, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer.

14.12. III Workshop on Magnetic Resonance NMR and EPR at the Forefront of Research. 31 de marzo y 1 de abril de 2016. Santa Fe, Argentina. “Preparation of aliskiren copper(II) complex and solution studies by EPR and UV-vis spectroscopies”. María S. Islas; María A. Grela; Evelina G. Ferrer; Patricia A.M. Williams.

**15. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

**16. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

15.1 Subsidio automático para investigadores CICPBA (2015-2016). \$ 18000.

15.2. Subsidio automático Proyectos UNLP (2013-2014). \$ 39037

15.3. ANPCyT. Investigador Responsable. (2014-2017). \$ 420000. PICT 2013-0569.

15.4. CONICET, co-titular. PIP112, 20130100611CO (2014-2016). \$ 150000 (primera cuota: \$ 25000, a fin de 2016).

**17. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

**18. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**

**19. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

Miembro vocal del Consejo de la Fundación Ciencias Exactas desde el 9 de marzo de 2010.

Integrante de la Comisión de Planeamiento (CoPla) del Departamento de Química desde el 16 de julio de 2014.

Integrante de la Comisión ad-hoc del Consejo Directivo, por la Memoria de la Facultad de Ciencias Exactas, 1 de octubre de 2015.

Miembro la Comisión de Seguridad del CEQUINOR, 2008-30 de marzo, 2016.

El tiempo utilizado fue aproximadamente 5 % del total.

**20. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

Profesor Titular Dedicación Exclusiva. Tiempo demandado en docencia, 12 horas semanales (27%).

**21. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TÍTULOS ANTERIORES.** *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

**21.1. Jurado de Tesis Doctorales**

Jurado de Tesis doctoral del Magister en Ciencias Químico-Farmacéuticas Jorge Ramón Abel Díaz. 14/1016. Calificada con Sobresaliente. Universidad Nacional de San Luis. Título: Estrategias de síntesis de nuevas sulfonamidas estructuralmente relacionadas con los anillos aromáticos 1,3,4-tiadiazol y benceno y sus complejos metálicos para evaluar su alcance como nuevos agentes con potenciales propiedades farmacológicas.

**21.2. Proyectos de extensión**

2015-2016. Director del proyecto de extensión "Aprendamos química de una forma divertida". Acreditado por concurso en la Universidad Nacional de La Plata. Expte: 700-16203/13-001, Res. N° 184/14, 11-02-2014.

**21.3. Evaluaciones**

20.3.1. 2016 Integrante coordinador de la comisión asesora para cubrir cargos de PADS y PADE de Química Inorgánica, FCE, UNLP.

21.3.2. Referee de publicaciones científicas:

2015: Latin American Journal of Pharmacy  
Journal of Inorganic Biochemistry (2)  
Current Medicinal Chemistry  
Inorganica Chimica Acta

2016: Journal of Biological Inorganic Chemistry  
Journal of Inorganic Biochemistry (2)  
Journal of Coordination Chemistry  
Current Medicinal Chemistry  
Biological Trace Elem Research  
Latin American Journal of Pharmacy

21.3.3. Evaluador de Proyectos de la Agencia Nacional de Promoción Científica, Tecnológica y de Innovación (2016), de la Universidad Nacional de La Rioja (2016), de la Universidad de la República (Uruguay, 2016), de la Universidad de Chaco Austral

(2015), Proyectos Fondo Clemente Estable (ANII; Uruguay, 2015), de Becas tipo A UNLP (2015).

21.3.4. Evaluador externo ingreso a la Carrera del Investigador. Ingreso CIC-CONICET 14 y de ingreso a la Carrera de la Universidad Nacional de Rosario (categorización) 2015

21.3.5. Integrante de la Comisión de Supervisión que entiende el trabajo de Tesis Doctoral de la Mag. Nora María Urquiza (resolución 424/08, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. UNT), a partir del 23/12/08, aprobada el 5 de abril de 2016 con nota sobresaliente 10 (diez).

21.3.6. Integrante de la Comisión ad hoc sobre la solicitud de designación de la Dra. Graciela PUNTE como Profesor Extraordinario en la categoría de Consulto, marzo de 2016.

## **20.5. Proyectos de Investigación acreditados**

Dirección del Proyecto (2012-2015) “Síntesis, caracterización fisicoquímica, estudios teóricos y biológicos de complejos metálicos con compuestos bioactivos”. Facultad de Agroindustrias. Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAus). Secretaría de Investigación, Ciencia y Técnica, con 6 hs semanales de dedicación. Resolución N° 018/12-C.S., código PI N°25.

Dirección del Proyecto 11/X736 (2015-2018) con 20 hs semanales “Búsqueda de nuevos fármacos antitumorales. Modificación estructural de flavonoides y de fármacos antihipertensivos por complejación con VO(IV) y Cu(II).”, acreditado por la UNLP.

## **22. TITULO, PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. Estudio estructural, espectroscópico y determinación de actividades biológicas de complejos metálicos con compuestos bioactivos**

### **INTRODUCCIÓN**

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo<sup>1</sup>. La Argentina se encuentra dentro del rango de países con incidencia de cáncer media-alta<sup>2</sup>. Asimismo, las enfermedades cardiovasculares representan uno de los mayores problemas de salud pública en el siglo XXI. Dentro de estas enfermedades la hipertensión tiene un papel preeminente además de los efectos deletéreos que causa en distintos órganos y tejidos ya que afecta aproximadamente a un tercio de la población mundial adulta<sup>3</sup>. El diseño de nuevos fármacos que tengan manifiesta actividad hipotensora y que a su vez sean capaces de proteger a órganos y tejidos de otro tipo de factores, como los radicales libres, ayudarán a reducir estos efectos en este grupo tan extenso de población<sup>4</sup>.

### **OBJETIVOS GENERALES**

Modificar estructuralmente fármacos y sustancias naturales por complejación con biometales y metales de interés biológico con el fin de potenciar y mejorar la actividad de los mismos. Se seleccionaron compuestos que tienen incidencia en las siguientes enfermedades:

1) Cáncer: Estudiar el efecto antitumoral y antimetastásico de complejos de flavonoides con el catión oxidovanadio(IV) en líneas celulares tumorales. Determinar mecanismos de acción y biodisponibilidad.

2) Hipertensión: Determinar los eventuales efectos antihipertensivos de complejos de Zn y/o Cu con fármacos antihipertensivos en modelos de células contráctiles y/o ratas hipertensas. Evaluar sus efectos antitumorales y los mecanismos de acción.

Determinar asimismo la toxicidad y los efectos antioxidantes y antimicrobianos de los compuestos obtenidos. Así, se pretende sintetizar y caracterizar en fase sólida y en solución nuevos complejos de coordinación (química inorgánica) usando familias de compuestos con actividad biológica (química bioinorgánica) y realizar estudios de modificación de la actividad farmacológica (farmacoquímica) para su aplicación como drogas alternativas para el tratamiento de dichas enfermedades.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La hipótesis general de trabajo se basa en la hipótesis que la modificación estructural de compuestos bioactivos a través de la formación de complejos de coordinación con metales de interés biológico permita mejorar sus propiedades farmacológicas. Para ello, la estrategia es generar los nuevos compuestos, partiendo de compuestos que contengan por ejemplo grupos funcionales adecuados para la coordinación con el ion metálico y realizar los ensayos pertinentes en cada caso. Así, se podrá evaluar si la complejación produjo algún efecto biológico benéfico sobre el efecto de los compuestos bioactivos iniciales, mediante la formulación de los siguientes pasos:

1) Síntesis y Caracterización de compuestos:

Sintetizar nuevos compuestos mediante el uso de diversas técnicas de:

a) flavonoides (rutina y apigenina) con el catión oxidovanadio(IV) (cáncer)

b) sartanes, aliskiren, enalapril, con Cu(II) y/o Zn(II) (hipertensión)

Caracterizar los nuevos compuestos en fase sólida mediante análisis elemental, estudios de descomposición térmica y espectroscopías FTIR, Raman, UV-vis, fluorescencia y EPR. Estudios estructurales en caso de obtener monocristales. Estudios vibracionales teóricos.

2) Caracterizar los complejos generados por disolución de los sólidos (especie activa) en condiciones fisiológicas (formación, estabilidad, disociación) mediante espectroscopías UV-vis, fluorescencia, NMR y EPR.

3) Determinar los efectos antimicrobianos y antioxidantes.

4) Estudios de biodisponibilidad (interacción y transporte de los compuestos por medio de albúmina sérica) mediante técnicas de fluorescencia y espectroscopía vibracional.

5) De acuerdo al tipo de compuesto sintetizado se investigará:

a) Efecto sobre la viabilidad de células tumorales. Mecanismos de acción. Generación de especies reactivas de oxígeno (EROs) y decrecimiento de reductores naturales (glutación, GSH) en líneas celulares. Efectos antimetastásicos.

b) Efectos antihipertensivos (sobre modelos de células contráctiles y/o ratas hipertensas) y sus efectos antitumorales y sus mecanismos de acción.

c) Determinación de toxicidad mediante el test de *Artemia salina*.

La mayoría de estas investigaciones biológicas se determinarán en CEQUINOR con diferentes colaboraciones federales y españolas: en la empresa INNOPROT de España (con quienes consignamos un convenio de intercambio de material vigente *vía* CONICET) y la UNNE (mecanismos de citotoxicidad), en la Universidad de Alcalá de Henares (UAH), Madrid, España (efecto en células contráctiles y mecanismos de citotoxicidad), en UNCAus (determinaciones antimicrobianas y de toxicidad) y en UNLaR (pruebas *in vivo* en ratas).

Con este tipo de compuestos se han logrado, en varias instancias, obtener compuestos más activos que los ligandos libres (efecto sinérgico) y se han podido comprobar las hipótesis acerca de los mecanismos de acción. En este proyecto se han seleccionado ligandos con actividad antioxidante o antihipertensiva reconocidas que pueden eventualmente actuar además como agentes antitumorales y antimicrobianos y nos permiten evaluar adicionalmente otros efectos farmacológicos como una manera de aportar mayor información científica a lo que actualmente se estudia como

polifuncionalidad. La otra estrategia es la selección del elemento metálico en su mayoría para este proyecto bioelementos. Se han seleccionado metales esenciales para el ser humano y uno que si bien no es esencial, es de baja toxicidad, todos ellos con reconocidas aplicaciones químicas y biológicas. En este contexto, este proyecto con todas las líneas de investigación en marcha presenta toda la capacidad técnica y humana para abarcar el estudio de las diferentes potencialidades.

Asimismo, se continuará con estudios en colaboración de compuestos con actividad antidepressiva (CEQUINOR) o actividad antifúngica (UNR) (ver trabajos publicados).

## **METODOLOGIA DE TRABAJO**

La primera etapa de estos estudios será exclusivamente de Química Inorgánica, sintetizando nuevos complejos de coordinación entre metales de interés biológico y ligandos con bioactividad propia (utilizando todas las técnicas que hemos desarrollado en el laboratorio durante más de 20 años) y estudiándolos desde el punto de vista estructural mediante diversos métodos fisicoquímicos, experimentales y teóricos. La hipótesis de trabajo consiste en mejorar las actividades de los compuestos a complejar, para combatir enfermedades de alta incidencia regional y mundial como el cáncer y la hipertensión asociada a estas enfermedades y aumentar la biodisponibilidad de los nuevos compuestos y disminuir los efectos tóxicos. Se evaluarán sus capacidades antioxidante, antitumoral (y los mecanismos de acción), antihipertensiva y antimicrobiana, según el caso con técnicas *in vitro* y/o *in vivo*. Se elegirán familias de ligandos modificadas estructuralmente para poder inferir relaciones estructura-actividad desde el punto de vista molecular. Para realizar la validación y contrastación empírica de la hipótesis, construida sobre la base de un trabajo científico sostenido, nuestro proyecto se realizará cumplimentando las siguientes fases:

**Fase 1.** Para todos los sistemas en estudio se cumplirá con la primera etapa de síntesis y caracterización de complejos de metales de transición, principalmente con Cu(II), Zn(II) y V(IV)O con los ligandos mencionados y otros derivados de aminoácidos o utilizando un segundo ligando para generar complejos ternarios. Se evaluarán sus propiedades fisicoquímicas en fase sólida y en solución. Asimismo, se realizarán estudios estructurales y vibracionales por métodos teóricos.

**Fase 2.** Evaluación de la capacidad de inhibición de fosfatasa alcalina y ácida y de sus propiedades superóxido-dismutasa similares. Determinación de las capacidades antioxidantes totales y frente a especies reactivas de oxígeno por espectroscopías electrónica, de fluorescencia y de EPR.

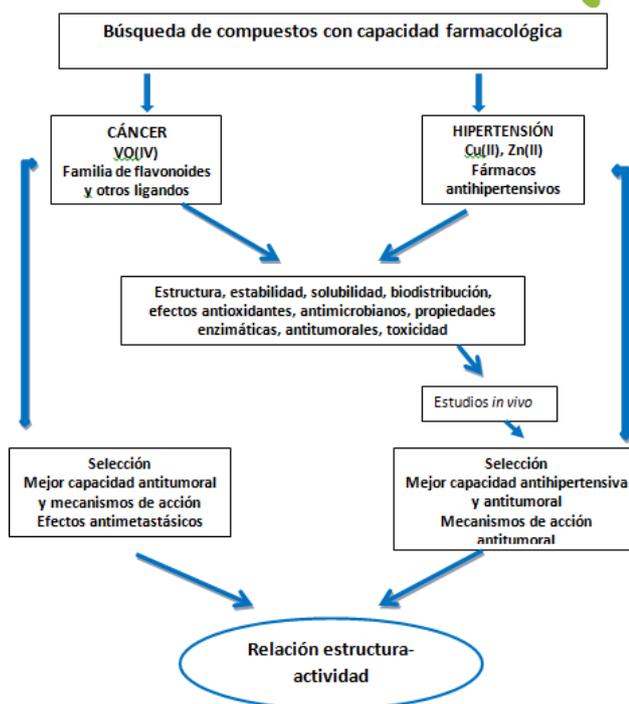
**Fase 3.** Biotransporte. Estudios en solución de interacción con albúmina sérica bovina mediante técnicas espectroscópicas, UV-vis y fluorescencia.

**Fase 4.** Bioactividad. Se realizarán determinaciones de capacidad antimicrobiana y de toxicidad. Las propuestas se cumplirán para cada tipo de compuesto de acuerdo a la pertinencia de los mismos.

Para todas las técnicas y cuando sea necesario se aplicará la metodología estadística.

(i) Cáncer: en el caso de los complejos de flavonoides y el catión oxidovanadio(IV) se determinarán los efectos de viabilidad celular y la generación de especies reactivas del oxígeno (en células de cáncer y sus líneas normales). Aquéllos que produzcan mejoras en dichas capacidades con respecto a los ligandos serán analizados a través de estudios de toxicidad, mecanísticos, potencial efecto antimetastásico y por su interacción con albúmina sérica bovina (biodistribución).

(ii) Hipertensión: los complejos obtenidos con fármacos que inhiben la contracción celular producida por angiotensina II (sartanes) serán analizados a través de medidas en células contráctiles y los complejos de ligandos antihipertensivos que actúen mediante otros mecanismos, serán evaluados por su acción en ratas con hipertensión inducida (en colaboración). A estos complejos también se le medirán sus capacidades antioxidantes y antitumorales, seleccionando aquéllos que presenten buenos resultados para evaluar sus mecanismos de acción.



## Referencias

1. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
2. <http://www.msal.gov.ar/inc/index.php/acerca-del-cancer/estadisticas>.
3. <http://www.proyecto-salud.com.ar/shop/detallenot.asp?notid=11923>.
4. D. Levy, S. Kenchaiah, M.G. Larson, E.J. Benjamin, M.J. Kupka, K.K.L. Ho, J.M. Murabito, R.S. Vasan, N. Engl. J. Med. 347 (2002) 1397-1402.