

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2013-2014

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: Williams

NOMBRES: Patricia Ana María

Dirección Particular:

Localidad:

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

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Fecha:

ACTUAL: Categoría: Investigador Independiente desde fecha: 07/07/1998

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: CEQUINOR-UNLP

Facultad: Ciencias Exactas

Departamento: Química

Cátedra: Química Inorgánica

Otros: -

Dirección: Calle: 47 N°: esq 115

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 0221 4259485

Cargo que ocupa: Profesor Titular DE-Investigador Independiente

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

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

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

6. 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 agentes antioxidantes naturales y antihipertensivos para modificarlos estructuralmente por complejación con biometales y estudiar 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 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 (sertralina) y antitiroideo (metimidazol), en colaboración.

Se realizó una búsqueda exhaustiva de complejos metálicos con fármacos que inhiben el sistema renina-angiotensina (antihipertensivos) que generó una publicación en forma de review (7.1.3.). Se sintetizaron complejos de cobre(II) con candesartan y tritil-candesartan los que resultaron tener un comportamiento antioxidante y antihipertensivo (7.1.1.). Asimismo se preparó el complejo con telmisartan (7.1.6. y 13.7.) el que además de dichos comportamientos benéficos se comportó como agente antitumoral en algunas de las células en cultivo de cáncer de pulmón y próstata y antimicrobiano frente a *S. aureus*.

Se continuó con el estudio de la síntesis y comportamiento biológico de complejos entre el catión oxidovanadio(IV) y los agentes antioxidantes naturales, los flavonoides, estructuralmente modificados. Dada la amplia familia de estos complejos que se han sintetizado y caracterizado estructural y biológicamente en estos años, se está tratando de establecer correlaciones en su comportamiento lo que dio lugar a una publicación (7.1.5.) donde se discuten además los mecanismos de acción antitumoral en células de cáncer de mama. Además se publicó el estudio del complejo VOmorina (7.1.2.) que demostró buena acción antitumoral (hueso y mama) y agente antioxidante. En colaboración se realizaron estudios biológicos de la acción de los complejos VOcrisina (7.1.9.) y VOsilibinina (7.1.10) reportados previamente, en una línea de osteosarcoma, demostrando un mecanismo de acción inhibitoria de la viabilidad celular dependiente de la generación de especies reactivas de oxígeno y apoptótico. Se completó el estudio de complejación del catión oxidovanadio(IV) con otro agente antioxidante natural, el ácido clorogénico (7.1.11. y 13.3.) el que presentó efectos antioxidantes, antitumorales y se midió su interacción con el transportador biológico, albúmina sérica.

Se completó el estudio teórico de complejos con bases nitrogenadas, que sirven de modelo de las bases naturales, sobre el Cu(II) determinando su geometría y además se determinó su efecto biológico sobre cepas bacterianas y la enzima fosfatasa alcalina en colaboración con docentes investigadores de la UNCAus (7.1.4).

Con respecto al fármaco sertralina (antidepresivo) se realizó su modificación estructural usando yodo y se estudió su comportamiento vibracional usando DFT y se publicó ese estudio junto con pruebas de su potencial actividad anti tiroidea y de su comportamiento en modelos de ratas con depresión (7.1.7.).

Otro fármaco actualmente en estudio es el metimidazol (antitiroideo). Se realizó el estudio de su complejo de Cu(II) y fenantrolina y los resultados de sus actividades antioxidantes, antibacterianas y de inhibición enzimática fueron comunicados (13.1. y 13.8.) y publicados (7.1.8.). Se completó asimismo el trabajo del complejo de cobre con metimidazol y en el período informado se envió a publicar su comportamiento como agente antitiroideo, inhibidor enzimático, que además mostró alta afinidad con la albúmina sérica bovina y no mostró efectos antimicrobianos (7.2.1., publicado en 2015).

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 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.*

Publicaciones periódicas como autor principal. Diseño, redacción de manuscritos y ejecución en colaboración.

7.1.1. M.S. Islas, T. Rojo, L. Lezama, M. Griera Merino, M.A. Cortes, M. Rodriguez Puyol, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams. "Improvement of the antihypertensive capacity of Candesartan and Trityl candesartan by their SOD mimetic copper(II) complexes." J. Inorg. Biochem. 123, 23-33 (2013).

Abstract

Two new complexes $[\text{Cu}(\text{Cand})(\text{H}_2\text{O})_4]$ [1] and $[\text{Cu}_2(\text{TCand})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [2] (Cand= candesartan; TCand= trityl candesartan) have been synthesized and thoroughly characterized. The FTIR, Raman, EPR and diffuse reflectance spectra of the solid compounds show a dimeric complex for [2] with carboxylate bridging of the type found in copper(II) acetate. Both elemental analysis and thermal measurements allow the determination of the total stoichiometries of both complexes. The stability measurements show that the compounds are stable in ethanolic solutions at least for 1 h, while the preservation of the overall stoichiometry for both species in solution has been determined by spectrophotometric titrations. By metal complexation the absence of antioxidant behavior of both sartans has been improved. Complexes [1] and [2] are strong superoxidedismutase mimetic compounds and complex [2] also behaves as a peroxy radical scavenger. Furthermore, this higher antioxidant activity works in parallel with the improvement of the expansive activity over the angiotensin II-induced contracted human mesangial cells. These new complexes exhibit even higher efficiency as drugs in comparison with the free non-complexed medication with increased antioxidant ability expressing higher capacity to block the angiotensin II contractile effect. This study provides a new insight into the development of copper(II) complexes as potential drugs.

7.1.2. E. Ferrer, P.A.M. Williams. "Biological evaluation of morin and its new oxovanadium(IV) complex as antioxidant and specific anticancer agents". Chem-Biol. Interact. 206, 289-301(2013).

Abstract

It is known that flavonoids possess, among others, antioxidant and antitumoral properties that depend on their molecular structure. The central objective of this study was to investigate the potential antioxidant and antiproliferative properties of the flavonol morin and its new oxovanadium(IV) complex (VOMor) that was synthesized in order to modify the morin chemical structure. Two osteoblast (UMR106 and MC3T3E1), two breast tumor (T47D and SKBR3) and breast epithelial cell lines in culture were used for the antitumoral determinations. Additionally, a comparative study of their antioxidant capacities using different radicals (DPPH[•], ABTS^{•+}, OH[•], O₂^{•-}, ROO[•]) was performed. Selected mechanisms of action were studied using the breast cancer cell lines. Results obtained show that morin and its complex behaved as good antioxidant agents for some

of the radicals and that the complexation improved the behavior with respect to OH^\cdot and O_2^\cdot radicals being morin more effective as ROO^\cdot scavenger. A considerable variation in sensitivity was observed in the breast cancer cells but non-specificity was found for the treatment of osteosarcoma. Moreover, the compounds did not affect the normal proliferation of the breast epithelial mammal cells. The mechanistic studies demonstrated that the complex did not generate reactive oxygen species in the cells (confirming the *in vitro* studies) and did not produce any damage of DNA. The plasmatic membrane was observed to be damaged only in the SKBR3 cell line. In contrast, the perturbation of the mitochondrial membrane potential and the activation of caspase 3/7 for the breast tumor cells revealed an apoptotic cell death process. All these results collectively suggested that VOMor complex could serve as promising pharmacologically active substance against breast cancer treatment.

7.1.3. Patricia A.M. Williams. Mini-review. "Metal complexes of the antihypertensive drugs that inhibit the renin-angiotensin system". *Curr. Trends in Med. Chem.* 7, 97-104 (2013).

Abstract

Hypertension affects nearly 1/3 of adult population worldwide. Several classes of medications are available to lower blood pressure including diuretics, β -blockers, calcium channel blockers (CCB) and the inhibitors of the renin-angiotensin system (RAS) such as renin inhibitors, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors and angiotensin II receptor blockers (ARB). Biometals are metal ions important for the vital functions of the living organisms and are able to chelate the administered medications and modify their structures. A great number of metal complexes of ACE inhibitors have been studied. Considering the recent development of the ARBs by rational drug design methods, it is important also to study metal complexes of the sartans family. The aim of this review is to describe the metal complexes of the ACE and ARB families and some of their biological properties.

7.1.4. J.J. Martínez Medina, M.S. Islas, L.L. López Tévez, E.G. Ferrer, N.B. Okulik, P.A.M. Williams "Copper(II) complexes with cyanoguanidine and o-phenanthroline: theoretical studies, *in vitro* antimicrobial activity and alkaline phosphatase inhibitory effect." *J. Mol. Struct.* 1058, 298-307 (2014).

Abstract

Calculations based on density functional methods are carried out for two Cu(II) complexes with cyanoguanidine (cnge) and o-phenanthroline (o-phen): $[\text{Cu}(\text{o-phen})_2(\text{cnge})](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1) and $[\text{Cu}(\text{o-phen})(\text{cnge})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2]$ (2). The calculated geometrical parameters are in agreement with the experimental values. The results of Atoms in Molecules (AIM) topological analysis of the electron density indicate that the Cu-N(phen) bonds in complex (1) have lower electron density, suggesting that those bonds are stronger in complex (2). Moreover, the ionic character of the Cu-N bond in the complex (1) is slightly stronger than that in the complex (2) and this situation would explain the fact that only complex (2) was stable in water solution. For this reason, the antimicrobial and enzymatic assays were performed using complex (2). It is well known that the increased use of antibiotics has resulted in the development of resistant bacterial and fungal strains. In this context, the study of novel antimicrobial agents has an enormous importance and metal complexes represent an interesting alternative for the treatment of infectious diseases. The aim of this work is to prove the modification of some biological properties like antimicrobial activity or alkaline phosphatase inhibitory activity upon copper complexation.

The antimicrobial profile of the metal, the ligands and complex (2) was studied against several bacterial and fungal strains by different microbiological methods. The values of MIC indicate that the complexation increases the antibacterial activity against *Enterococcus faecalis*, but decreases this activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The complex (2) exhibited longer PAEs/PAFEs than copper and o-phen against *Escherichia coli* and all fungal strains, and longer PAEs/PAFEs than some antibiotics or antifungal agents against *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Complexation also

improves the alkaline phosphatase inhibitory effect of copper and cngc. Therefore, the interaction of copper(II) with N-containing ligands may provide a promising strategy for the development of novel drugs with enhanced antimicrobial activity or alkaline phosphatase inhibitory activity.

7.1.5. Luciana Naso, María Valcarcel, Patricia Villacé, Meritxell Roura-Ferrer, Clarisa Salado, Evelina Ferrer, Patricia Williams. "Specific antitumor activities of natural and oxovanadium(IV) complexed flavonoids on human breast cancer cells". *New J. Chem.* **38**, 2414-2421 (2014).

Abstract

The structure-activity relationships of the natural flavonoids quercetin, chrysin and silibinin have revealed that they meet the key structural requirements for killing tumor cells. When the structure of these three flavonoids is modified by complexation using the oxovanadium(IV) cation their cytotoxic properties on human breast cancer cell lines are enhanced. Breast epithelial cells are used to determine the selectivity of these compounds. The mechanisms of action of the flavonoids and the oxovanadium(IV) cation on the MDA-MB231 cell line seem to be different to the apoptotic mechanisms of cell death exerted by the oxovanadium(IV) complexes. These results showed the mechanisms of the antitumoral effect of these complexes being them promissory compounds for cancer treatments.

7.1.6. M.S. Islas, J.J. Martínez Medina, L.L. López Tévez, T. Rojo, L. Lezama, M. Griera Merino, L. Calleros, M.A. Cortes, M. Rodriguez Puyol, G.A. Echeverría, O.E. Piro, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams. "Antitumoral, antihypertensive, antimicrobial and antioxidant effects of an octanuclear copper(II)-telmisartan complex with an hydrophobic nanometer hole" *Inorg. Chem.* **53**, 5724-5737 (2014).

Abstract

A new Cu(II) complex with the antihypertensive drug telmisartan, $[\text{Cu}_8\text{TIm}_{16}]\cdot 24\text{H}_2\text{O}$ (CuTIm), was synthesized and characterized by elemental analysis and electronic, FTIR, Raman and EPR spectroscopy. The crystal structure (at 120 K) was solved by X-ray diffraction methods. The octanuclear complex is a hydrate of but otherwise isostructural to the previously reported $[\text{Cu}_8\text{TIm}_{16}]$ complex. $[\text{Cu}_8\text{TIm}_{16}]\cdot 24\text{H}_2\text{O}$ crystallizes in the tetragonal $P4/ncc$ space group with $a=b=47.335(1)$, $c=30.894(3)$ Å, $Z=4$ molecules per unit cell giving a macro-cyclic ring with a double helical structure. The Cu(II) ions are in a distorted bi-pyramidal environment with a somewhat twisted square basis, *cis*-coordinated at their core N_2O_2 basis to two carboxylate oxygen and to two terminal benzimidazole nitrogen atoms. $\text{Cu}_8\text{TIm}_{16}$ has a toroidal-like shape with a hydrophobic nanometer hole and their crystal packing defines nano-channels that extend along the crystal *c*-axis. Several biological activities of the complex and the parent ligand were examined *in vitro*. The antioxidant measurements indicate that the complex behaves as a superoxide dismutase mimics with improved superoxide scavenger power as compared with native sartin. The capacity of telmisartan and its copper complex to expand human mesangial cells (previously contracted by angiotensin II treatment) is similar to each other. The antihypertensive effect of the compounds is attributed to the strongest binding affinity to angiotensin II type 1 receptor and not to the antioxidant effects. The cytotoxic activity of the complex and that of its components was determined against lung cancer cell line A549 and three prostate cancer cell lines (LNCaP, PC-3 and DU 145). The complex displays some inhibitory effect on the A549 line and a high viability decrease on the LNCaP (androgen-sensitive) line. From flow cytometric analysis it was established an apoptotic mechanism for the latter cell line. Telmisartan and CuTIm show antibacterial and antifungal activities in various strains and CuTIm displays improved activity against the *Stafilococcus aureus* strain as compared with unbounded copper(II).

Publicaciones periódicas con participación en diseño, ejecución y redacción de manuscritos.

7.1.7. Graciela E. Escudero, Verónica Ferraresi Curotto, Carlos H. Laino, Reinaldo Pis Diez, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer. "Sertraline and its iodine product: experimental and theoretical vibrational studies. Potential *in vitro* anti-thyroid activity of sertraline and iodine product toxicity with respect to male Wistar rats." *Spectrochim. Acta A*, **104**, 271-279 (2013).

Abstract

Major depression, obsessive-compulsive panic, social anxiety disorders are common diseases that are usually treated with sertraline hydrochloride which is the active ingredient of the well known drugs as Zoloft and Lustral. In this work, we presented a more complete vibrational characterization of the solid phase FT-IR spectra of Sertraline hydrochloride and its sertraline-iodine product in which the conformational space of the molecules was investigated performing molecular dynamic simulations within an NVT ensemble. Geometrical, electronic and vibrational properties were calculated with the density functional theory. Comparison of the simulated spectra with the experimental spectra provides important information about the ability of the computational method to describe the vibrational modes of both molecules. In addition, for the first time we present the evaluation of antithyroid activity of sertraline hydrochloride by using the Lang's method. Also, with the aim to evaluate the antidepressant effect of its iodine product we demonstrated for this compound the toxic effect towards the male Wistar rats.

7.1.8. Nora M. Urquiza, M. Soledad Islas, María Laura Dittler, María A. Moyano, Silvia G. Manca, Luis Lezama, Teófilo Rojo, Juan J. Martínez Medina, Maximiliano Diez, Leonor López Tévez, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer. "Inhibition behavior on alkaline phosphatase activity, antibacterial and antioxidant activities of ternary methimazole-phenanthroline-copper(II) complex." *Inorg. Chim. Acta*, **405**, 243-251 (2013).

Abstract

Methimazole (MeimzH), a sulfur containing compound, is an antithyroid drug commonly used to treat Graves' disease acting as an inhibitor of the enzyme thyroid peroxidase. A new ternary $[\text{Cu}(\text{MeimzH})_2(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ (Cu-Met-phen) complex of this drug containing also phenanthroline as a second ligand (phen) was synthesized and characterized by elemental analysis, dissolution behavior, thermogravimetric analysis, UV-Vis, diffuse reflectance, FTIR and EPR spectroscopies. As it is previously reported, the binary $[\text{Cu}(\text{MeimzH})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Cu-Met) complex can act as an inhibitor of alkaline phosphatase (ALP). In this work, the inhibitory effect of methimazole, phenanthroline, $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{Cl}]\text{Cl}$ (Cu-phen) and the new ternary complex has also been investigated and compared with Cu-Met together with *in vitro* tests of susceptibility against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Enterococcus faecalis* bacteria. To our knowledge, the antibacterial activity of methimazole is determined for the first time. For the ternary complex, the results show that the coordination of the drug increased its antibacterial effect especially against *E. faecalis* demonstrating a strong effect against *S. aureus* and *S. epidermidis*. The assays also indicate that in some strains the new complex show better activity than their ligands. The ability for the inhibition of alkaline phosphatase (ALP) was lower than that of the binary complex (Cu-Met) probably due to the absence of labile ligands around the metal center. Moreover, the antioxidant activity of the complexes decreases as follows: Cu-Met > Cu-Phen > Cu-Met-Phen.

7.1.9. I.E. Leon, A.L. Di Virgilio, V. Porro, C.I. Muglia, L.G. Naso, P.A.M. Williams, M. Bollati-Fogoli, S.B. Etcheverry "Antitumor properties of a vanadyl(IV) complex with the flavonoid chrysin $[\text{VO}(\text{chrysin})_2\text{EtOH}]_2$ in a human osteosarcoma model: the role of oxidative stress and apoptosis". *Dalton Trans*, **42**, 11868-11880 (2013).

Abstract

Flavonoids, a polyphenolic compound family, and the vanadium compounds have interesting biological, pharmacological, and medicinal properties. We report herein the antitumor actions of the complex $[\text{VO}(\text{chrysin})_2\text{EtOH}]_2$ (VOchrys) on the MG-63 human osteosarcoma cell line. Oxovanadium(IV), chrysin and VOchrys caused a concentration-dependent inhibition of cell viability. The complex was the strongest antiproliferative agent ($p < 0.05$). Cytotoxicity and genotoxicity studies also showed a concentration effect. Reactive oxygen species (ROS) and the alterations in the GSH/GSSG ratio underlie the main mechanisms of action of VOchrys. Additions of ROS scavengers (vitamin C plus vitamin E) or GSH to the viability experiments demonstrated beneficial effects ($p < 0.01$). Besides, the complex triggered apoptosis, disruption of the mitochondria membrane potential (MMP), increased levels of caspase 3 and DNA fragmentation measured by the sub-G1 peak in cell cycle arrest experiments ($p < 0.01$). Collectively, VOchrys is a cell death modulator and a promissory complex to be used in cancer treatments.

7.1.10. I.E. Leon, V. Porro, A.L. Di Virgilio, L.G. Naso, P.A.M. Williams, M. Bollati-Fogolín and S.B. Etcheverry. "Antiproliferative and apoptosis-inducing activity of an oxidovanadium(IV) complex with the flavonoid silibinin against osteosarcoma cells". *J. Biol. Inorg. Chem.* **19**, 59-74 (2014).

Abstract

Flavonoids are a large family of polyphenolic compounds synthesized by plants. They display interesting biological effects mainly related to their antioxidant properties. On the other hand, vanadium compounds also exhibit different biological and pharmacological effects in cell culture and in animal models. Since coordination of ligands to metals can improve or change the pharmacological properties, we report herein, for the first time, a detailed study of the mechanisms of action of an oxidovanadium(IV) complex with the flavonoid silibinin, $\text{Na}_2[\text{VO}(\text{silibinin})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (VOsil), in a model of the human osteosarcoma derived cell line MG-63. The complex inhibited the viability of osteosarcoma cells in a dose dependent manner with a greater potency than that of silibinin and oxidovanadium(IV) ($p < 0.01$), demonstrating the benefit of complexation. Cytotoxicity and genotoxicity studies also showed a concentration effect for VOsil. The increase in the levels of reactive oxygen species and the decrease of the ratio of the amount of reduced glutathione to the amount of oxidized glutathione were involved in the deleterious effects of the complex. Besides, the complex caused cell cycle arrest and activated caspase 3, triggering apoptosis as determined by flow cytometry. As a whole, these results show the main mechanisms of the deleterious effects of VOsil in the osteosarcoma cell line, demonstrating that this complex is a promising compound for cancer treatments.

7.1.11. Luciana G. Naso, María Valcarcel, Meritxell Roura-Ferrer, Danel Kortazar, Clarisa Salado, Luis Lezama, Teofilo Rojo, Ana C. González-Baró, Patricia A.M. Williams, Evelina G. Ferrer. "Promising antioxidant and anticancer (human breast cancer) oxidovanadium(IV) complex of chlorogenic acid. Synthesis, characterization and spectroscopic examination on the transport mechanism with Bovine Serum Albumin." *J. Inorg. Biochem.* **135**, 86-99 (2014).

Abstract

A new chlorogenate oxidovanadium complex ($\text{Na}[\text{VO}(\text{chlorog})(\text{H}_2\text{O})_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) was synthesised by using Schlenk methodology in the course of a reaction at inert atmosphere in which deprotonated chlorogenic acid ligand binds to oxidovanadium(IV) in a reaction experiment controlled *via* EPR technique and based in a species distribution diagram. The compound was characterized by FTIR, EPR, UV-vis and diffuse reflectance spectroscopies and thermogravimetric, differential thermal and elemental analysis. The ligand and the complex were tested for their antioxidant effects on DPPH[•], ABTS^{•+}, O₂^{•-},

OH[•] and ROO[•] radicals and their cytotoxic activity on different cancer cell lines (SKBR3, T47D and MDAMB231) and primary human mammary epithelial cells. The complex behaved as good antioxidant agent with strongest inhibitory effects on O₂^{•-}, OH[•] and ROO[•] radicals and exhibited selective cytotoxicity against SKBR3 cancer cells line. Albumin interaction experiments denoted high affinity toward the complex and its calculated binding constant was indicative of a strong binding to the protein. Based on this study, it is hypothesized that Na[VO(chlorog)(H₂O)₃].4H₂O would be a promising candidate for further evaluation as an antioxidant and anticancer agent.

7.2 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.*

En prensa 2014. Publicado 2015. Publicación periódica con participación en diseño, ejecución y redacción de manuscritos.

7.2.1. 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(H₂O)₂](NO₃)₂·H₂O) produces a weak inhibition action while Cu-Met-phen ([Cu(MeimzH)₂(phen)(H₂O)₂]Cl₂) shows a strong inhibition effect (IC₅₀ = 300 μM) 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 × 10¹⁰ M⁻¹ being 10⁶ times more active than methimazole (K_c = 4.16 × 10⁴ M⁻¹) in opposition to Cu-Met which presented activity (K_c = 9.54 × 10³ 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 μg mL⁻¹ 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.

7.3 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.*

- 7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.** *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*
- 7.5 COMUNICACIONES.** *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*
- 7.6 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.*
- 8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.**
- 8.1 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.*
- 8.2 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.*
- 8.3 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.*
- 8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES** *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*
- 8.5 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.**
- 9. 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.*
- 10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:**
- 10.1 DOCENCIA**
- 10.2 DIVULGACIÓN**
- 2013. Participante de Feria de Ciencias en el colegio EES N° 2 La Plata 5 de julio de 2013.
 - 2013-2014. Participante de las Jornadas de divulgación científica organizada por el CCT La Plata los días 18 y 20 de septiembre de 2013 y 21 y 23 de mayo de 2014.
 - 2014. Participación en la Feria de Proyectos de Extensión. FCE. UNLP el 30 de octubre de 2014 en el marco de las Jornadas de Difusión de la Extensión (30 y 31 de octubre de 2014).
- 11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES.** *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

01/04/11-31/03/13. Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Dirección de la Beca Tipo II, CONICET, de la Bioqca. Luciana Naso. Título: "Obtención y estudio de complejos de metales de transición con moléculas bioactivas. Evaluación de sus propiedades enzimáticas y biológicas *in vitro*".

01/04/13-07/04/14. Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Dirección de la Beca Posdoctoral, CONICET, de la Bioqca. Luciana Naso. Título: Estudios mecanísticos de la acción antitumoral y antioxidante y de biodistribución de complejos VO-flavonoides en sistemas acelulares y celulares.

01/04/10-31/03/13. Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Dirección de la Beca Tipo I, CONICET, de la Lic. Soledad Islas. Título: "Estudio estructural, espectroscópico y determinación de actividades biológicas de complejos metálicos con compuestos bioactivos".

01/04/13-31/03/2015. Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. 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".

01/04/14-actual. Fac. de Ciencias Exactas, UNLP. Dirección de la Beca Interna doctoral, CONICET, del Farm. Juan José Martínez Medina. 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-antibmicótico y cálculos teóricos del complejo de Cadmio con cianoguanidina y orto-fenantrolina". Codirector: Martínez Medina, Juan José.

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."

12. 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 Lic. Soledad Islas a partir del 10 de septiembre de 2010, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Título: "Estudio estructural, espectroscópico y determinación de actividades biológicas de complejos metálicos con compuestos bioactivos". Finalizada (y aprobada con sobresaliente, 10) el 19 de diciembre de 2014.

Dirección compartida de la Tesis Doctoral de la Farmacéutica Graciela Escudero a partir del 26 de agosto de 2009, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Título: "Diseño, síntesis y evaluación de actividades *in vitro* de nuevos compuestos con potenciales aplicaciones biológicas y/o farmacológicas". Tesis en redacción (todos los cursos aprobados)

Dirección de la Tesis Doctoral de la Farmacéutica Libertad Leonor López Tévez desde el 30-11-02, Facultad 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". Tesis en redacción (todos los cursos aprobados).

Dirección de la Tesis Doctoral del Farm. y Mg. Juan José Martínez Medina a partir del 27 de mayo de 2014, Facultad 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".

13. 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.*

13.1. XVIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Rosario - 9-12 de abril 2013. "Determinación de la actividad superóxido-dismutasa símil, de la inhibición de la fosfatasa ácida y del efecto antimicótico del complejo ternario de cobre con metimidazol y fenantrolina." Nora Urquiza, Juan J. Martínez Medina, María L. Dittler, Santiago T. Ariza, N. Jori, M.S. Islas, M. Diez, L.L. López Tévez, S.G. Manca, P.A.M. Williams, E.G. Ferrer.

13.2. XVIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Rosario - 9-12 de abril 2013. "Estudio de la interacción de Zn con ácido cumarín carboxílico y 4-aminopiridina en fase sólida y en solución acuosa." M.S. Islas, M.B. Colombo Migliorero, A.C. González Baró, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

13.3. XVIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Rosario - 9-12 de abril 2013. "Estudio espectroscópico de la interacción del complejo de ácido clorogénico con oxovanadio(IV) con albúmina sérica bovina y de sus efectos antitumorales." L.G. Naso, S.B. Etcheverry, P.A.M. Williams, E.G. Ferrer.

13.4. XVIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Rosario - 9-12 de abril 2013. "Preparación y caracterización de complejos de Ni(II) con ligandos xantato y donores de N." L.C. Juncal, E. Ferrer, P. Williams, C.O. Della Védova y R.M. Romano.

13.5. XVIII Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Rosario - 9-12 de abril 2013. "Nuevo complejo de oxovanadio(IV) con naringenina: síntesis, caracterización y determinación de sus propiedades antioxidantes." M.S. Islas, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

13.6. IV Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry- V WOQUIBIO (Workshop de Química Bioinorgánica). 5-8 de agosto, 2014, Chascomús, Argentina. "Antitumoral effects of naringenin and its complex with oxidovanadium(IV) on breast cancer cell lines in culture. Albumin binding studies by Fluorescence Spectroscopy." L.G. Naso, M.S. Islas, M. Valcarcel, C. Salado, M. Roura-Ferrer, E.G. Ferrer, P.A. M Williams.

13.7. IV Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry- V WOQUIBIO (Workshop de Química Bioinorgánica). 5-8 de agosto, 2014, Chascomús, Argentina. "Antitumoral, Antihypertensive, Antimicrobial, and Antioxidant Effects of an Octanuclear Copper(II)-Telmisartan Complex with an Hydrophobic Nanometer Hole". M.S. Islas, J.J. Martínez Medina, L.L. López Tévez, T. Rojo, L. Lezama, M. Griera Merino, L. Calleros, M.A. Cortes, M. Rodriguez Puyol, G.A. Echeverría, O.E. Piro, E.G. Ferrer, P.A. M. Williams.

13.8. IV Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry- V WOQUIBIO (Workshop de Química Bioinorgánica). 5-8 de agosto, 2014, Chascomús, Argentina. "Anti-Hyperthyroid Activity of the Bioactive $[\text{Cu}(\text{Met})_2(\text{Phen})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ Complex and Studies of the Mechanisms of Interaction with Bovine Serum Albumin by Spectroscopic Techniques." N.M. Urquiza, M.S. Islas, M.J. Lavecchia, P.A.M. Williams, E.G. Ferrer.

13.9. 12th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EuroBIC12), 24-28 de agosto, 2014. Zurich, Suiza. "Evaluation of the antioxidant, antihypertensive and antitumor activity of a Cu(II) and Irbesartan (Irb) complex $[\text{Cu}(\text{Irb})_2(\text{H}_2\text{O})]$ (CuIrb): synthesis, characterization and DFT study." M.S. Islas, C.A. Franca, L. Lezama, T. Rojo, M. Griera Merino, M.A. Cortes, L. Calleros, M. Rodriguez Puyol, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

13.10. RICIFA. Reunión Internacional de Ciencias Farmacéuticas. Ciudad Universitaria, Córdoba, 18 y 19 de septiembre 2014. "Improvement of the anxiolytic-like effect of candesartan by its SOD mimetic copper(II) complex" B.S. Casarsa, I. Rodriguez, P.A.M. Williams, G. Baiardi, C. Bregonzio.

13.11. 10th Triennial Congress of the World Association of Theoretical and Computacional Chemists, WATOC 2014, 5-10 octubre, Santiago, Chile. "Computational study and spectroscopic investigations of the $[\text{Zn}(\text{phen})_2(\text{cnge})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ complex" N.B. Okulik, J.J. Martínez Medina, M.S. Islas, C.A. Franca, P.A.M. Williams,

13.12. 31 Congreso Latinoamericano de Química CLAQ-2014 y XXVII Congreso Peruano de Química, 14-17 de octubre 2014, Lima, Perú. "Computational study and antifungal activity, genotoxicity and acute toxicity determinations of the $[\text{Zn}(\text{fen})_2(\text{cnge})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ complex." J.J. Martínez Medina, W.S. Alegre, C.A. Torres, L.L. López Tévez, N.B. Okulik, C.A. Franca, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams.

13.13. 31 Congreso Latinoamericano de Química CLAQ-2014 y XXVII Congreso Peruano de Química, 14-17 de octubre 2014, Lima, Perú. Determination of the antioxidant and antimicrobial activities of the antithyroid drug propylthiouracil (PTU) and its dimeric copper (II) complex $[\text{Cu}(\text{PTU})_2]_2$. N.M. Urquiza, J.J. Martínez Medina, L.G. Naso, P.A.M. Williams, E.G. Ferrer.

13.14. IV Jornadas de Química Inorgánica, 20-21 de octubre 2014, La Plata. "Síntesis y estudios espectroscópicos (RMN, IR) de un complejos de plata(I) y albendazol (ALBZ) con actividad antifúngica." C. Giulidori, N. Mosconi, B. Toplikar, M. Vega, E. Hure, P.A.M. Williams, M. Derita, M. Rizzotto.

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

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

15.1 Subsidio automático para investigadores CICPBA (2013-2014). \$ 14500.

15.2. Subsidio automático Proyectos UNLP (2013-2014). \$ 30718

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

15.4. CONICET, co-titular. PIP112, 20130100611CO (2014-2016). \$ \$ 150000

15.5. Subsidios del Programa de subsidios para proyectos de investigación científica y tecnológica. CICPBA. Director. PICyT 813/13. (2014) \$ 25000.

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

17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

18. 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.*

Universitarios

Miembro del Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, 04/10-04/14 por el claustro de profesores.

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.

En Instituciones Académicas y Científicas

Miembro de la Comisión de Seguridad del CEQUINOR, 2008-actual.

El tiempo utilizado fue aproximadamente 10 % del total.

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

(01/03/2006-28/02/2014) Profesor Adjunto DE Ordinario, por concurso. Tiempo demandado en docencia, 12 horas semanales (27%).

(28/02/2014-actual) Profesor Titular DE Interino. Tiempo demandado en docencia, 12 horas semanales (27%).

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

20.1. Jurado de Tesis Doctorales

Jurado de Tesis doctoral de la Qco. Angélica Moreno Betancourt. 29/03/14. Calificada con sobres. 10. Universidad Nacional de La Plata. Título: Estudios fotoquímicos y electrónicos de especies con interés atmosférico.

20.2. Dirección de alumnos pasantes

2012-2013. Dirección de la señorita María Belén Colombo Migliorero, alumna de la carrera de Química.

20.3. Proyectos de extensión

2011-2013. Director del proyecto de extensión "Aprendamos química de una forma divertida". Acreditado por concurso en la Universidad Nacional de La Plata. Expte: 700-07569- Resolución 30-6-2011.

2014-2015. 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.

20.4. Evaluaciones

20.4.1. 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.

20.4.2. Referee de publicaciones científicas:

2013: Journal of Coordination Chemistry (2)
Mini-Reviews in Medicinal Chemistry
Journal of Inorganic Biochemistry (2)
African Journal of Pharmacy and Pharmacology
2014: Journal of Medicinal Plant Research
Polyhedron (2)
Journal of Inorganic Biochemistry (2)
Journal of Biological Inorganic Chemistry
Life Sciences
Latin American Journal of Pharmacy (3)
Molecular and Cellular Biochemistry

20.4.3. Evaluador de Proyectos de la Universidad de la República (Uruguay, 2014), de la Universidad Nacional de Tucumán (2013), de Proyectos e informes del Programa de Incentivos UNMdP (2014), Proyectos UBACYT (UBA, 2014)

Evaluador del premio al mejor trabajo presentado en el XVIII Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica, Rosario, 9-12 de abril, 2013.

20.5. Proyectos de Investigación acreditados

Dirección del Proyecto 11/X609 (2011-2014) con 23 hs semanales. "Estudio de complejos de metales de transición con moléculas bioactivas. Evaluación de sus propiedades enzimáticas y biológicas *in vitro*", acreditado por la UNLP.

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.

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.

Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

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

Resumen: Este proyecto es interdisciplinario abarcando la Química Bioinorgánica y la Farmacología Inorgánica (Química Inorgánica Medicinal). Los elementos esenciales (como Fe, V, Cu, Zn, Ni, Co) necesitan incorporarse a las dietas en dosis adecuadas con el fin de evitar enfermedades letales. Se ha demostrado que en numerosos casos la acción benéfica de los ligandos (antioxidantes, fármacos, etc) se potencia por su interacción con los biometales. Se seleccionaron como ligandos fármacos antihipertensivos (sartanes y aliskiren), antitiroideos (metimidazol) y antidepresivos (sertralina) y compuestos polifenólicos naturales y eventualmente compuestos nitrogenados similares a los naturales, para sintetizar y caracterizar complejos con dichos metales. Se estudiarán sus propiedades biológicas (capacidad para imitar o inhibir enzimas y secuestrar radicales libres). Se harán estudios de estabilidad de los complejos y se investigarán sus efectos en un caso en modelos de líneas tumorales en cultivo, evaluando sus efectos de proliferación y posible toxicidad por generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y otros mecanismos de acción y la actividad antihipertensiva se estudiará usando células contráctiles.

Objetivos

Objetivos generales

El proyecto se fundamenta en lograr una mejor comprensión del comportamiento químico de los metales de transición (biometales) en relación a la interacción y formación de complejos con ligandos de interés biológico y/o farmacológico. El desarrollo del mismo pretende abordar el aspecto químico que determina los factores condicionantes de su actividad biológica, principalmente los nexos de relación entre la estructura, las propiedades fisicoquímicas y los mecanismos de acción en medios biológicos.

Se busca principalmente relacionar los diferentes aspectos que se puntualizan a continuación y que implican un impacto directo no sólo sobre el conocimiento científico de estos sistemas sino sobre la salud de la población.

- 1) Modificar la acción biológica de fármacos o sustancias bioactivas por complejación.
- 2) Seleccionar biometales capaces de coordinar con los grupos funcionales de los diferentes compuestos.
- 3) Sintetizar y caracterizar los complejos obtenidos. Determinar su comportamiento en solución simulando condiciones fisiológicas (estabilidad, especiación).
- 4) Determinar sus acciones enzimáticas similares y efectos antioxidantes.
- 5) Investigar los efectos biológicos en células contráctiles, tumorales y normales en cultivo, como potenciales agentes antitumorales o antihipertensivos. Evaluar su posible mecanismo de acción. Evaluar efectos antidepresivos en modelos de ratas usando diferentes pruebas.

Objetivos específicos

- 1) Sintetizar complejos de metales de transición (especialmente de Zn, Cu y V) con ligandos con interés farmacológico y biológico (antioxidantes), respectivamente.
- 2) Caracterizar los complejos obtenidos (en fase sólida y en solución acuosa, simulando condiciones fisiológicas) mediante diferentes técnicas espectroscópicas.
- 3) Analizar los efectos de actividades antioxidantes de los ligandos y complejos en sistemas acelulares: superóxidodismutasa, ensayos de actividad anti radicalaria usando el radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y ABTS⁺ sal de amonio derivada del ácido 2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico), radical hidroxilo, radical peroxilo y actividad inhibitoria de las enzimas fosfatasa alcalina y ácida.
- 4) Investigar la actividad de los complejos metálicos y ligandos de origen sobre la proliferación y diferenciación en células tumorales y normales, su posible mecanismo de acción y la capacidad de dilatar células contraídas previamente (efecto que produce la disminución de la hipertensión arterial) y mecanismos antimetastásicos sobre modelos animales. Usar modelos de ratas con depresión para probar los nuevos compuestos.
- 5) Determinar actividades antibacterianas y antifúngicas, citotoxicidad y genotoxicidad.

Metodología

Para la obtención de resultados y demostración de hipótesis se desarrollarán las siguientes tareas y metodologías experimentales:

1. Síntesis de complejos cristalinos.

Se trabajarán sobre diferentes técnicas de preparación de complejos. El objetivo principal es lograr obtener de cristales para la resolución de sus estructuras: Síntesis en atmósfera inerte (argón puro) con material tipo SchlenK. Difusión lenta en solventes no acuosos y de difusión en vapor. Técnica de geles. Síntesis hidrotérmica. Técnicas de reflujo, cambios de solventes, pH y temperaturas de trabajo.

2. Caracterización estructural.

Se emplearán las siguientes metodologías de trabajo: Espectroscopías de fluorescencia, UV-vis y de Reflectancia Difusa. Difracción de rayos X (en polvo o en monocristales). Espectroscopía vibracional de IR y Raman. Susceptibilidad magnética a diferentes temperaturas. Resonancia Paramagnética Electrónica. Estudios termogravimétricos (TGA) y Análisis térmico diferencial (DTA). Análisis elementales.

3. Estudios en solución.

En este contexto se realizarán estudios potenciométricos simulando las condiciones fisiológicas para determinar su biodisponibilidad. Se determinarán constantes de estabilidad, gráficos de distribución de especies en solución y la identificación de los rangos de pH donde exista una única especie. Se realizarán cálculos teóricos usando los programas BEST y SUPERQUAD. Se aplicarán además las técnicas de EPR y UV-vis, para efectuar titulaciones espectrofotométricas.

4. Aplicaciones biológicas.

En una primera etapa, se harán los estudios de estabilidad de los complejos sólidos disueltos en condiciones fisiológicas. Luego se procederá a la aplicación de determinación de actividades enzimáticas, utilizando las siguientes metodologías:

- Se determinará la inhibición que ejercen los compuestos sobre las fosfatasa alcalina (FAL) y ácida (FA), enzimas responsables de las cascadas complejas de fosforilaciones y desfosforilaciones reversibles en sistemas biológicos. La enzima superóxidodismutasa, SOD, contiene Cu y Zn en el sitio activo y es un secuestrante efectivo del radical superóxido. Se estudiará la actividad SOD de los complejos obtenidos.
- Determinación de actividades antioxidantes. En particular se determinarán las actividades anti-radicales usando: DPPH, ABTS⁺, radical hidroxilo y radical peróxido.
- En el caso de los complejos con ligandos con actividad biológica y/o farmacológica se realizarán, además, estudios *in vitro* de sus propiedades biológicas usando células de diferentes tumores en cultivo comparándolas con su acción en la línea normal (fundamentalmente se harán ensayos de viabilidad celular y medidas de generación de especies reactivas de oxígeno, ROS). Se harán, además estudios de morfología celular. Estos últimos ensayos se realizarán en Cequinor junto con determinaciones mecánicas por citometría de flujo y de interacción con albúmina sérica. Se desarrollarán estudios mecánicos en colaboración para comprender el efecto producido en las mismas: ensayos de activación de caspasas, afectación de potencial de membrana, daño al ADN y a la membrana plasmática. Con respecto a los complejos con ligandos antihipertensivos, se medirá en colaboración, la capacidad de dilatar células contraídas previamente con el compuesto natural angiotensina II para evaluar si la complejación con cobre o con zinc mejora el efecto de los fármacos sintéticos (sartanes y aliskiren) sobre la hipertensión arterial.
- Con algunos de los complejos se ensayarán sus actividades antimicrobianas, utilizando técnicas de difusión en agar y dilución en agar. Se realizarán estudios de citotoxicidad y genotoxicidad mediante el test de Ames y de Artemia salina.
- Los compuestos con fármacos antidepresivos serán estudiados por su acción *in vivo* sobre modelos de ratas Wistar, en colaboración con la UNLaR.
- Metodología estadística. Se llevarán a cabo al menos tres experimentos independientes para cada condición experimental. Los resultados se expresarán como la media \pm SEM. Las diferencias estadísticas serán analizadas usando el test *t* de Student y el análisis de varianza (ANOVA).

Plan: Como ya se mencionó, los flavonoides constituyen una de las subfamilias de polifenoles naturales y poseen múltiples propiedades biológicas observadas experimentalmente entre las cuales pueden mencionarse actividades antioxidante, antiviral y antitumoral. Por otro lado, se sabe que la complejación puede o bien producir un aumento de su actividad o bien mejorar su solubilidad

en medios biológicos (biodisponibilidad). En ese sentido, se continuará con el estudio de sistemas del catión VO(IV) y sustancias antioxidantes habiendo seleccionado flavonoides naturales apigenina, diosmina, luteolina y baicalina, entre otros, que difieren en la posición y número de sitios hidroxilados, para poder comparar las diferentes relaciones estructura-actividad. Se incorporarán también en los estudios las cumarinas y otros flavonoides. En algunos casos se harán estudios en fase sólida, medidas de estabilidad y biodisponibilidad en solución y en otros, se medirán sus propiedades antioxidantes (actividad de superóxidodismutasa similar y poder secuestrante de diversos radicales). Además, se comenzará con los estudios vibracionales usando la teoría del funcional de la densidad, DFT.

Continuando con el estudio de complejos de cobre(II) con sustancias antihipertensivas para evaluar una posible mejora de su actividad, se concluirá con el estudio de los complejos con irbesartan y se encarará el estudio de complejos de sartanes con el biometal Zn, incluyendo otro fármaco recientemente sintetizado que actúa en otro paso del sistema renina angiotensina, denominado aliskiren.

Una vez absorbidos, los biometales se distribuyen en diferentes tejidos y órganos, transportados por transportadores naturales como la albúmina (en algunos casos se realizarán medidas de su interacción). Se eligen líneas tumorales (en esta etapa de cáncer de pulmón y mama) para estudiar los efectos de los complejos con ligandos de interés biológico y/o farmacológico. Fundamentalmente se harán ensayos de proliferación, morfología y generación de radicales libres (por técnicas de fluorescencia). En los casos que se detecte toxicidad, se harán los estudios de mecanismos de acción: activación de caspasas, daño de membrana mitocondrial y plasmática, estrés oxidativo y daño al ADN, estos últimos a través de una colaboración que se mantiene con un laboratorio de Derio, España. La propuesta experimental provee un modelo sencillo para el estudio de nuevos compuestos de vanadio con potencial aplicación farmacológica utilizando moléculas derivadas de flavonas que se utilizan para el tratamiento de enfermedades con base inflamatoria como el cáncer. Asimismo, la modificación de fármacos para potenciar sus efectos es una práctica actual. En particular se han modificado estructuralmente adicionando grupos con otra actividad biológica (por ejemplo, se forman complejos híbridos entre sartanes y flavonoides con el fin de suministrar efectos antioxidantes junto con los antihipertensivos). Una modificación estructural que todavía no se había efectuado con fines farmacológicos fue la de coordinarlo a un metal esencial que forma parte de diferentes enzimas como el cobre. En este aspecto se continuará con la síntesis de los complejos de sartanes y aliskiren con cobre y Zn determinando sus actividades biológicas en Cequinor y en colaboración con investigadores de la Universidad de Alcalá de Henares, Madrid. Los resultados esperados en todos los casos permitirán seleccionar dentro de las series de compuestos en estudio aquellos con potenciales aplicaciones para el tratamiento de diversas patologías.

Asimismo, se encarará la síntesis y estudio de complejos de metales de transición biológicamente importantes con fármacos antidepresivos sobre modelos de ratas Wistar.

Actualmente se está colaborando con diferentes grupos de distintas universidades:

Nora Okulik, Libertad López Tévez (tesista) y Juan José Martínez Medina (tesista y becario CONICET) de la Cátedra Química Inorgánica y Microbiología, UNCAus e integrantes del proyecto del Programa de Incentivos bajo mi dirección en UNCAus, en el tema del estudio de actividades antimicrobianas, cito y genotóxicas y estudios teórico-estructurales.

Dra. Marcela Rizzotto de la Cátedra Química Inorgánica de Rosario, de la UNR, en el tema de complejos metálicos con fármacos sulfas.

Farm. Graciela Escudero, docente de la UNLaR y tesista para estudiar la modificación de la actividad antidepresiva del fármaco sertralina por complejación con metales bioactivos.

Se continúa la colaboración con el grupo de la Universidad del País Vasco (Dr. Luis Lezama), con medidas de espectros de EPR en fase sólida y solución y se iniciarán estos estudios en la UNMdP mediante una colaboración con la Dra. Grela. Se continuará con la colaboración con el Dr. Manuel Rodríguez Puyol de la Universidad de Alcalá de Henares, Madrid (ensayos de actividad antihipertensiva) y Clarisa Salado de la empresa española Innoprot para ensayos de mecanismos de acción antitumoral en cultivos celulares.

El proyecto está relacionado con el interés de la población en general. Los datos sobre mortalidad específica por causas en Argentina indican que las enfermedades del sistema circulatorio promedian el 30 % y los tumores malignos el 20 %, siendo estos índices similares a lo que ocurre en países con alto desarrollo. La generación de nuevos compuestos para el tratamiento de la hipertensión y el cáncer es un tema de interés provincial y nacional.