



# Estudios de actividad antitumoral del complejo de crisina con el catión oxidovanadio(IV). Interacción con albúmina sérica bovina



Naso, Luciana G., Ferrer, Evelina G., Williams, Patricia A. M.

Centro de Química Inorgánica (CEQUINOR-CONICET-UNLP), 120 N° 1465 (1900) La Plata, Argentina  
e-mail: naso@quimica.unlp.edu.ar



Facultad de Ciencias Exactas  
Universidad Nacional de la Plata

## Introducción

Crisina es una flavona comúnmente encontrada en la fruta azul de la pasión. Posee diversas propiedades biológicas tales como capacidad antioxidante, anticancerígena, entre otras. Su modificación estructural mediante complejación con el catión oxidovanadio(IV) ([VO(crisina)<sub>2</sub>.etanol]<sub>2</sub> (VOcris)) fue previamente publicada<sup>1</sup> (Fig. 1).

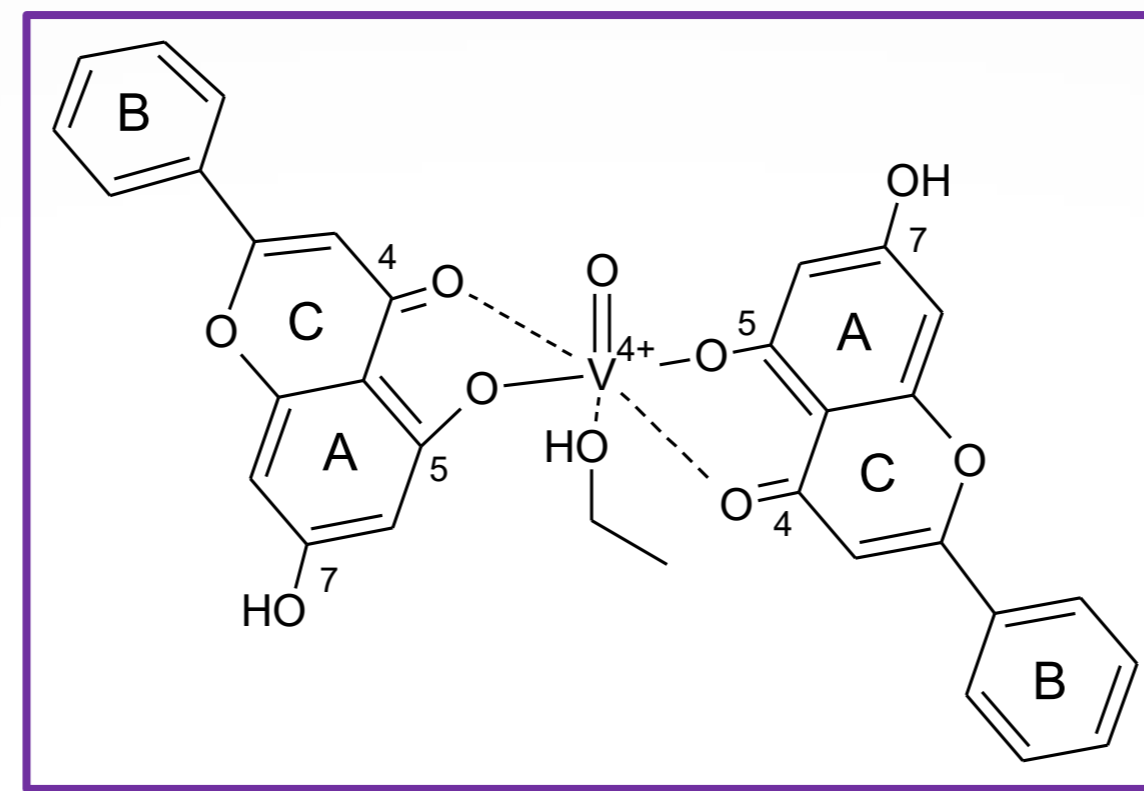


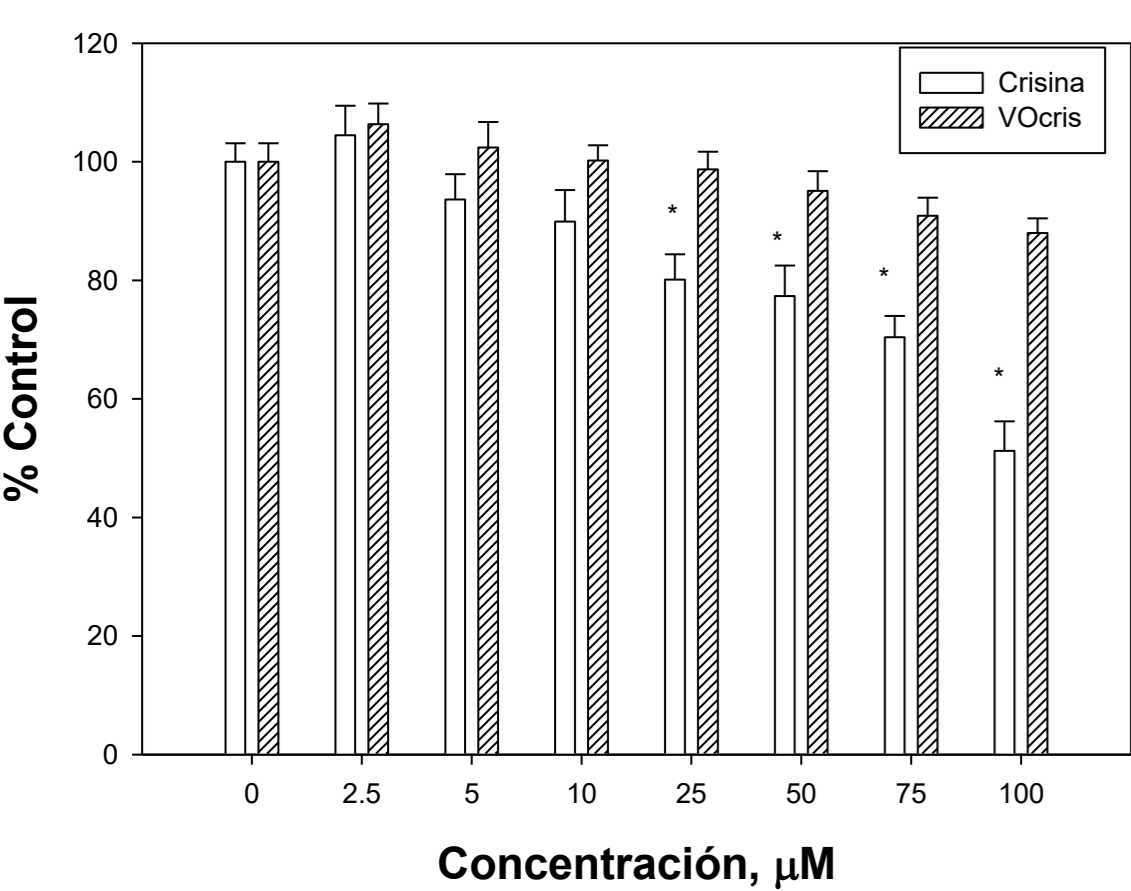
Fig. 1. Estructura de VOcris.

## Objetivos

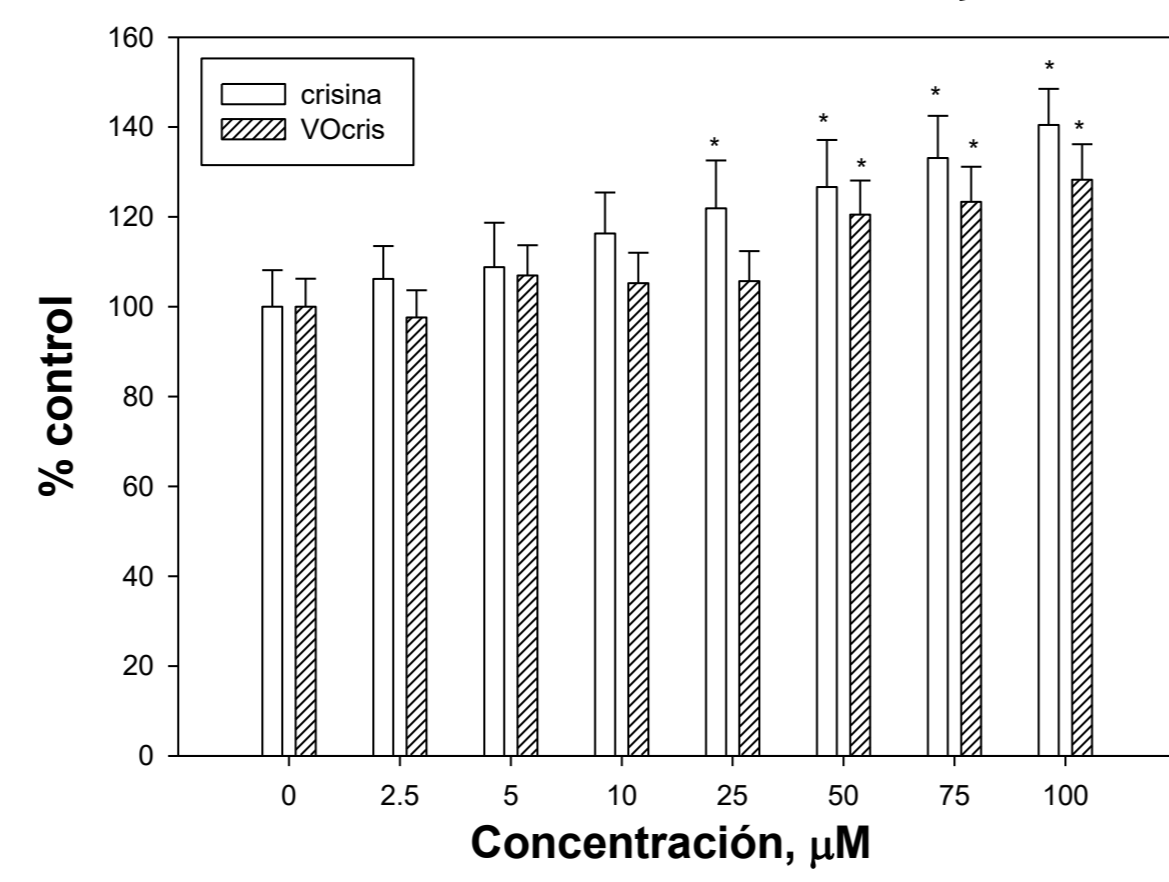
- Determinar mediante técnicas espectroscópicas (FTIR y fluorescencia) la interacción de crisina y VOcris con la albúmina sérica bovina (ASB).
- Evaluar la capacidad antitumoral de los compuestos sobre células A549 en cultivo y estudiar sus efectos sobre la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs).

## Resultados

### Viabilidad celular, 24 h



### Producción de EROs, 24 h



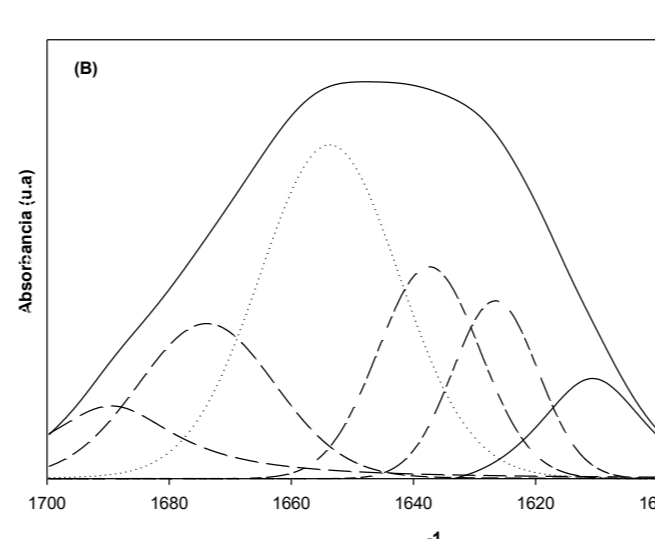
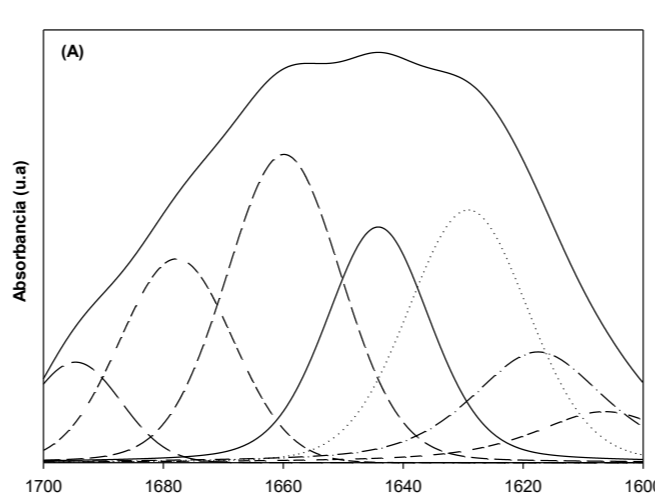
	CI <sub>50</sub> (μM), 24 h	CI <sub>50</sub> (μM), 48 h	CI <sub>50</sub> (μM), 72 h
Crisina	>100	66,4	37,3
VOcris	>100	41,2	6,05

CI<sub>50</sub> para crisina y Vocris a 24,48 y 72 h de incubación en la línea A549.

Crisina y VOcris inhiben la viabilidad de las células derivadas de cáncer de pulmón de manera dosis y tiempo dependiente. La acción citotóxica del ligando, a 48 y 72 h, fue mejorada cuando se modificó su estructura por complejación con el catión oxidovanadio(IV). Ambos compuestos, además, producen un aumento de las EROs a 24 h sugiriendo que el estrés oxidativo está involucrado en el mecanismo de acción.

## Espectroscopía infrarroja

Amida I	ASB <sup>2</sup>	Crisina	VOcris
Hoja plegada β antiparalela (β-antiparalela, 1675-1695 cm <sup>-1</sup> )	4,45	4,84	7,30
giros β (Turns) (1666-1673 cm <sup>-1</sup> )	10,12	15,59	15,70
α-hélice (α-helix) (1650-1658 cm <sup>-1</sup> )	59,76	25,14	34,94
Estructura al azar (Random coil) (1637-1645 cm <sup>-1</sup> )	13,45	18,16	15,90
Hélice solvatada (Solvated helix) (1625-1637 cm <sup>-1</sup> )	10,14	21,51	11,15
Hoja plegada β paralela (β-sheets) (1613-1625 cm <sup>-1</sup> )	2,08	14,74	15,00



Determinación por FTIR de los porcentajes de la estructura secundaria de los componentes de la banda de Amida I de la ASB cuando interacciona con Crisina y VOcris.

Deconvolución de la región correspondiente a la banda de Amida I de los espectros FTIR de crisina (A) y VOcris (B).

Los resultados muestran una disminución en el % de la conformación de α-hélice (1650-1658 cm<sup>-1</sup>) en comparación con ABS (-57% crisina, -42% VOcris) mientras existe un marcado incremento en el % de contribución de las conformaciones hoja plegada β antiparalela y paralela. La interacción con la ASB provoca un desplegamiento proteico con pérdida significativa de la conformación mayoritaria α-hélice.

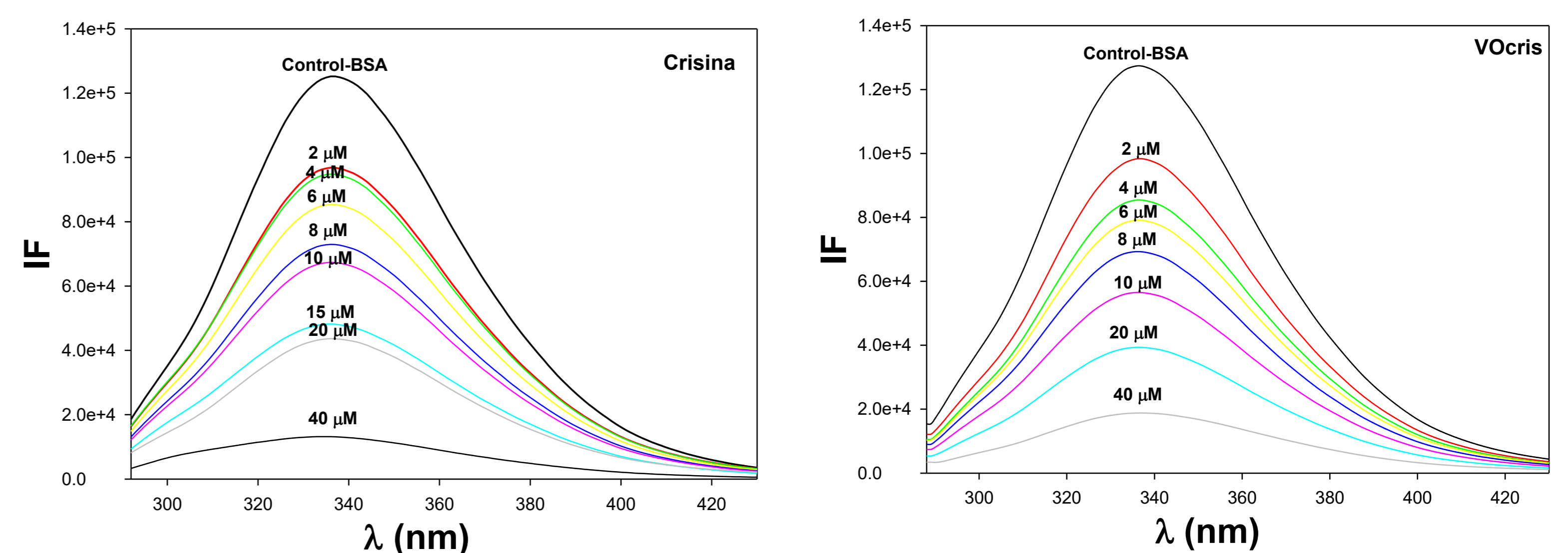
## Ensayo competitivo

	Crisina		VOcris	
	K <sub>a</sub> (x10 <sup>5</sup> ) (M <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>	K <sub>a</sub> (x10 <sup>5</sup> ) (M <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>
ibuprofeno	0,38	0,989	1,09	0,971
indometacina	1,44	0,996	0,67	0,964

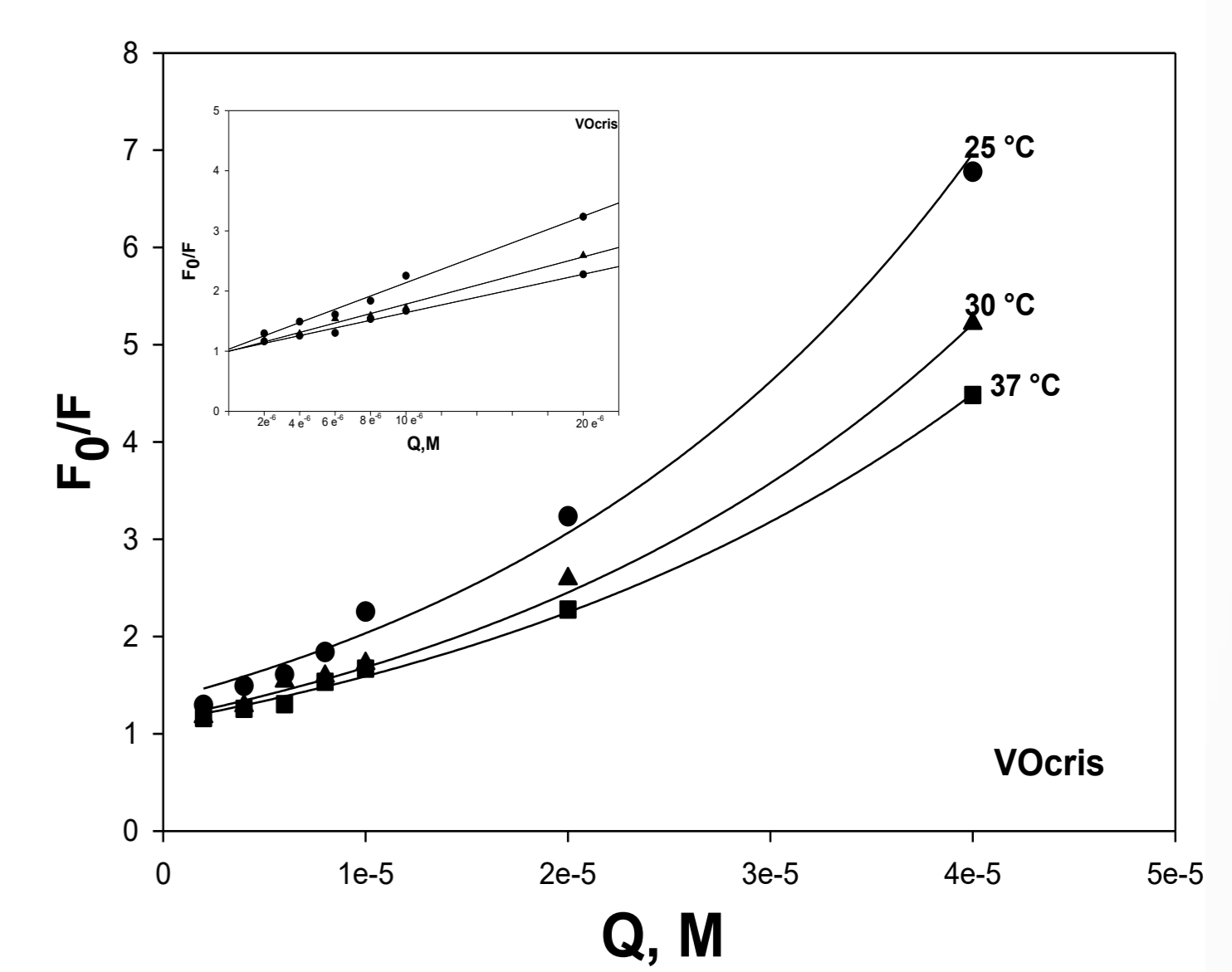
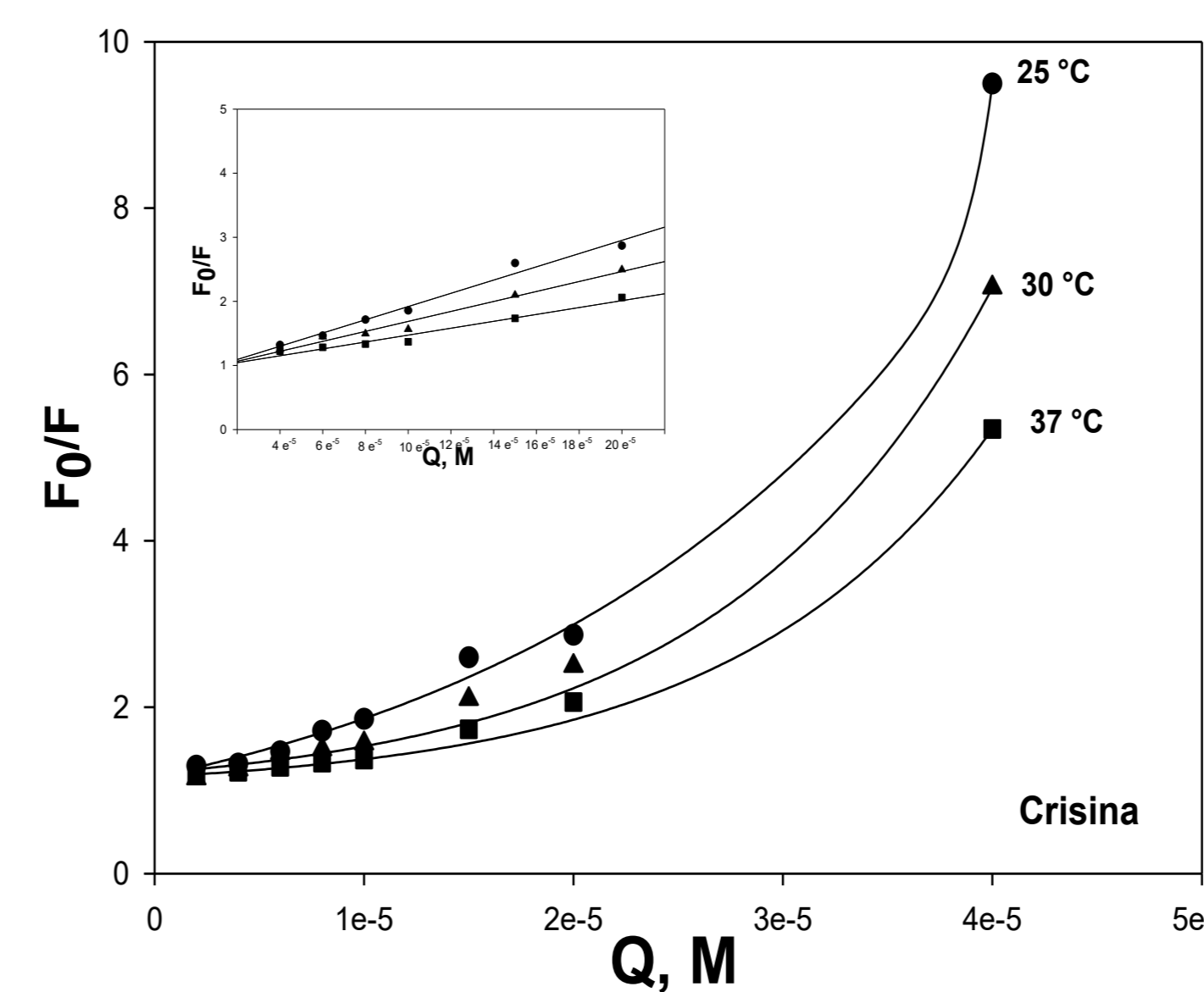
El ensayo competitivo de desplazamiento con marcadores de sitio I (indometacina) y II (ibuprofeno) a 298 K, sugiere que crisina se une al sitio II (subdominio IIIA) de ABS y VOcris se une fundamentalmente al sitio I (subdominio IIA).

**Conclusión** Ambos compuestos pueden ser transportados por la ABS y la actividad anticancerígena del ligando es potenciada por complejación.

## Estudios de biodisponibilidad. Interacción con la ASB



Crisina y VOcris interaccionan con la ASB observándose una disminución de la intensidad de fluorescencia o *quenching*.



A bajas concentraciones se observa un comportamiento lineal indicando que el *quenching* es simple, estático o dinámico pero a altas concentraciones la curvatura hacia arriba indica que el *quenching* es combinado, estático y dinámico.

Crisina					VOcris						
T(K)	K <sub>SV</sub> (x 10 <sup>4</sup> ) (M <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>	K <sub>q</sub> (x 10 <sup>12</sup> ) (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	K <sub>a</sub> (x10 <sup>5</sup> ) (M <sup>-1</sup> )	n	T(K)	K <sub>SV</sub> (x 10 <sup>4</sup> ) (M <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>	K <sub>q</sub> (x 10 <sup>12</sup> ) (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	K <sub>a</sub> (x 10 <sup>5</sup> ) (M <sup>-1</sup> )	n
298	10,3	0,980	10,3	2,74	1,08	298	11,00	0,988	11,00	3,16	1,08
303	7,78	0,978	7,78	1,58	1,07	303	7,84	0,990	7,84	1,51	1,03
310	5,37	0,962	5,37	0,76	1,02	310	6,39	0,989	6,39	1,02	1,04

La disminución del valor de la constante de Stern-Volmer (K<sub>SV</sub>) con el aumento de la temperatura y el valor de K<sub>q</sub> mucho mayor que el valor del *quenching* dinámico (2 x 10<sup>10</sup> M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) sugieren que la interacción de la ASB con crisina y VOcris pueden ocurrir a través de *quenching* estático. Los valores de las constantes de unión (K<sub>a</sub>) indican una interacción moderada de los compuestos con la ABS y los valores de n cercanos a 1 demuestran que existe un sitio de unión. La disminución de K<sub>a</sub> con el aumento de la temperatura indica que se reduce la estabilidad compuesto-proteína.

## Parámetros termodinámicos

	ΔH (KJ/mol)	ΔS (J/mol)	ΔG (KJ/mol)	T (K)
Crisina	-82,01	-171,18	-30,99	298
			-30,14	303
			-28,90	310
VOcris	-70,74	-132,95	-31,12	298
			-30,45	303
			-29,52	310

Los parámetros termodinámicos demuestran que ambos compuestos pueden ser transportados por la ASB sugiriendo un proceso espontáneo (ΔG<0) y presencia de puentes de hidrógeno e interacciones de Van der Waals (ΔH<0 y ΔS<0) entre la proteína y los compuestos.