



Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Química Inorgânica – Laboratório de Química Bioinorgânica e Medicinal

Síntese, caracterização e avaliação das atividades antibacterianas e antitumorais de complexos de Pt(II) e Pd(II) com L-butionina sulfoximina

Fernanda Chagas Rodrigues (bolsista CNPq-PIBIC), Carlos Marrote Manzano, Pedro Paulo Corbi (orientador)

Introdução

Desde a antiguidade, metais e seus complexos têm sido utilizados para o tratamento dos mais diversos males, podendo ser citados relatos da ingestão do ouro em pó, que era considerado capaz de curar diversos males e um elixir da juventude desde 2500 a.C., e também do uso do cobre metálico para a esterilização da água no Egito Antigo^{1,2}. O uso racional de compostos metálicos na área medicinal, contudo, teve início a partir do século XX, com a descoberta das propriedades antituberculose do $K[Au(CN)_2]$, e também da eficácia da arsfenamina (complexo contendo o semi-metal As) no tratamento da sífilis².

A descoberta das atividades antitumorais da cisplatina (*cis*-diaminodichloridoplatina(II)) na década de 1960, em especial contra câncer testicular, ovariano, de cabeça e de pescoço³⁻⁵, levou a Química Medicinal a incluir complexos metálicos como potenciais agentes terapêuticos⁶, o que resultou em um aumento do interesse no desenvolvimento de novos complexos metálicos com propriedades medicinais, com destaque para complexos de Pt(II), Pt(IV) e Pd(II) e suas propriedades anticâncer^{4,5,7,8}. Atualmente, já é mundialmente difundido o uso de metalofármacos no tratamento e diagnóstico de doenças.

Nesse contexto de desenvolvimento de novos complexos metálicos para uso medicinal, uma estratégia utilizada por pesquisadores e aplicada nesse trabalho é a combinação de agentes terapêuticos já bem estabelecidos com íons metálicos que possuam propriedades reconhecidas contra microrganismos e/ou células cancerígenas. A utilização dessa estratégia pode levar à obtenção de metalofármacos que, devido à possíveis efeitos aditivos ou sinérgicos, exibam atividades tanto do fármaco quanto do metal^{9,10}.

A L-butionina sulfoximina, BSO, é um aminoácido sintético cuja estrutura está apresentada na Figura 1. A escolha desse ligante é natural para complexos de Pt(II) e Pd(II), visto que a BSO é clinicamente utilizada como agente auxiliar em tratamentos com metalofármacos como a cisplatina¹¹. Isso ocorre porque a BSO inibe a síntese da glutathione¹², que por sua vez está relacionada com a resistência adquirida de células tumorais à medicamentos anticâncer à base de metais¹³. Além disso, já foi relatada na literatura a inibição *in vitro* e *in vivo* de linhas celulares derivadas de melanoma pela L-butionina sulfoximina¹⁴, ou seja, ela tem potencial para atuar por si só como um possível agente antitumoral.

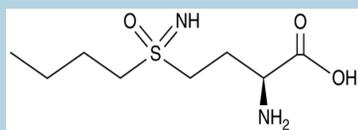


Figura 1. Estrutura da L-butionina sulfoximina

Nesse trabalho é descrita a síntese de novos complexos de Pd(II) e de Pt(II) com a L-butionina sulfoximina, sendo utilizada a orto-fenantrolina como ligante auxiliar.

Metodologia

Para a síntese do complexo de Pd(II), primeiramente foi preparado o precursor *cis*-dicloridofenantrolinapaládio(II), $[PdCl_2(phen)]$. A reação foi feita em meio aquoso na proporção 1:1 entre o tetracloridopaladato(II) de potássio, $K_2[PdCl_4]$, e a *o*-fenantrolina monohidratada, $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$. Foram diluídos 1,0 mmol do sal de paládio em 10 mL de água, com posterior adição de 1,0 mmol de *o*-fenantrolina. A reação seguiu à temperatura ambiente e sob agitação magnética constante por 24 horas. O precursor foi separado por filtração à vácuo e seco em dessecador. O complexo de Pd(II) foi preparado dissolvendo 0,60 mmol de hidróxido de potássio, KOH, em 10 mL de água, seguido da adição de 0,60 mmol do precursor previamente preparado e de 0,60 mmol do ligante BSO. A reação foi mantida sob agitação constante e refluxo, em banho de silicone à aproximadamente 80 °C por 24 horas. Ao fim desse período, uma solução amarela límpida foi formada e o complexo foi precipitado com a adição lenta e constante de 0,60 mmol de hexafluorofosfato de amônio, NH_4PF_6 , em 2 mL de água sob agitação magnética. Depois da adição completa da solução de NH_4PF_6 , a agitação prosseguiu por 30 minutos. O complexo formado foi separado por filtração à vácuo e seco em dessecador.

O complexo de Pt(II) foi sintetizado seguindo a mesma metodologia e quantidades (em mmol) de reagentes da síntese do complexo de Pd(II). Para a síntese do precursor, foi utilizado 0,60 mmol de tetracloridoplatinato(II) de potássio, $K_2[PtCl_4]$, ao invés do tetracloridopaladato(II) de potássio. Uma diferença foi a manutenção da reação em banho de silicone por 48 horas, ao invés de 24 h conforme efetuado na síntese do complexo de Pd(II). O complexo de Pt(II) foi separado da mesma forma aplicada ao complexo de Pd(II).

Resultados

A síntese deu origem a um sólido amarelado, no caso do complexo de Pd(II), e a um sólido alaranjado, no caso do complexo de Pt(II). Ambos apresentaram solubilidade em DMSO, pouca solubilidade em acetonitrila, acetona e dimetilformamida e insolubilidade em água, metanol, etanol e clorofórmio.

Os complexos foram submetidos a diversas análises químicas, espectroscópicas e espectrométricas, que levaram à proposta de suas estruturas apresentadas na Figura 2.

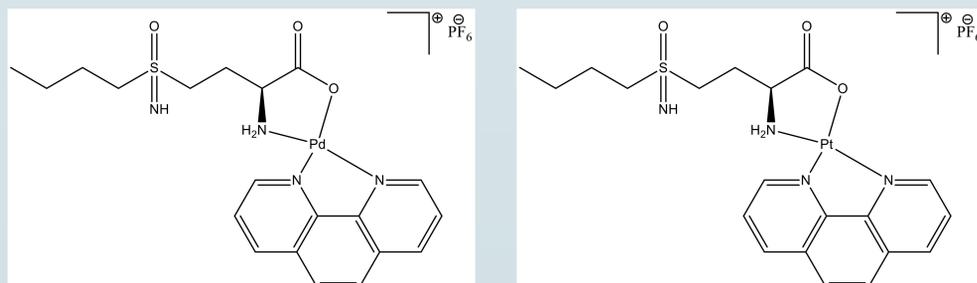


Figura 2. Estruturas propostas para os complexos de Pd(II) (esquerda) e Pt(II) (direita).



Pelos resultados da análise por espectrometria de massas (Figura 3) foram identificadas em solução as espécies $[\text{Pd}(\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^+$ (m/z 507) e $[\text{Pt}(\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^+$ (m/z 596), que indicam a presença em solução dos complexos com as composições inicialmente sugeridas.

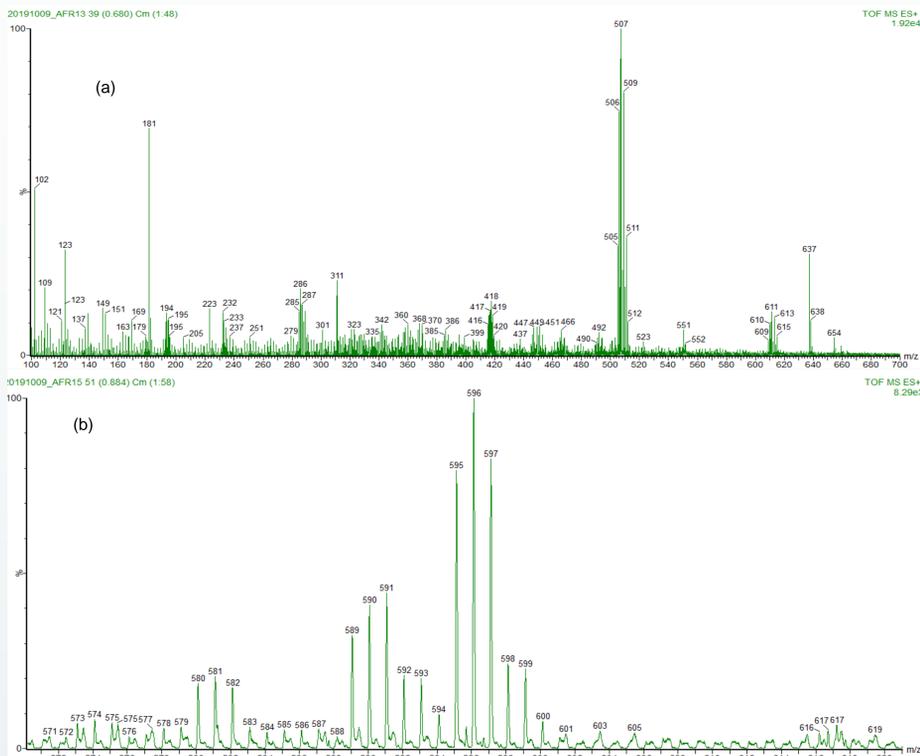


Figura 3. Espectro de massas (ESI/MS, modo positivo) para o complexo de Pd(II) (a) e para o complexo de Pt(II) (b).

Pelas análises dos espectros de absorção na região do infravermelho (Figura 4), é possível observar uma banda em 1654 cm^{-1} para o complexo de Pd(II) e em 1658 cm^{-1} para o complexo de Pt(II), que podem ser atribuídas à vibração $\nu(\text{C}=\text{O})$ e que sugere a coordenação dos metais pelo grupo carboxilato de forma monodentada, já que não observamos mais a forma zwitterionica do ligante.

Além disso, é possível perceber o deslocamento das bandas relativas ao grupo amino. No espectro do ligante livre, essas bandas podem ser atribuídas aos sinais em 3227 e 3134 cm^{-1} . No espectro do complexo de Pd(II) esses sinais aparecem em 3315 e 3218 cm^{-1} , enquanto no complexo de Pt(II) observamos uma banda alargada entre 3400 e 3300 cm^{-1} .

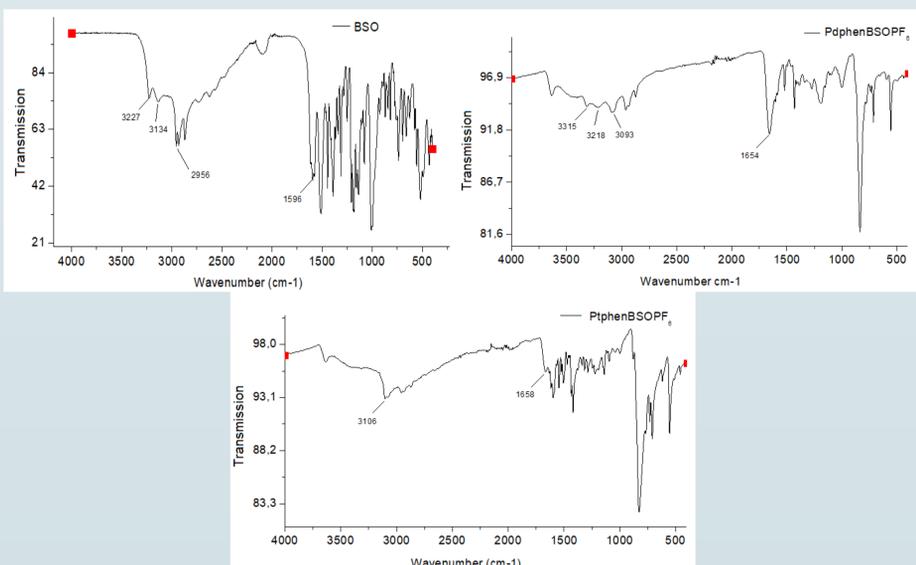


Figura 4. Espectros de absorção no infravermelho para BSO livre, complexo de Pd(II) e complexo de Pt(II).

Algumas análises feitas para se confirmar a composição e estrutura dos complexos sintetizados estavam em fase de repetição quando as atividades dos laboratórios de pesquisa foram suspensas devido à pandemia causada pelo novo coronavírus. Entre elas, podemos citar a análise elementar e a análise termogravimétrica.

Até o momento, apenas o complexo de Pd(II) foi submetido à análise por ressonância magnética nuclear, incluindo ^1H , ^{13}C , $\{^{13}\text{C}, ^1\text{H}\}$ HSQC e HMBC, além de $\{^1\text{H}, ^{15}\text{N}\}$ HSQC, todas em DMSO deuterado. Na Figura 5 está representada a estrutura proposta (e até agora a mais provável) para o complexo de Pd(II) com os hidrogênios e carbonos identificados.

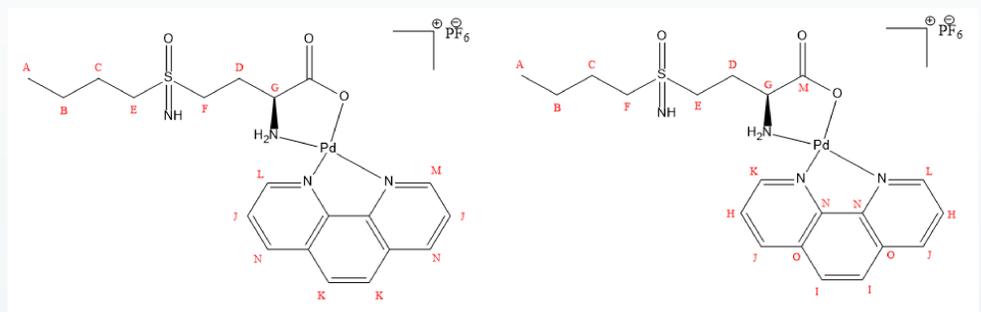


Figura 5. Estrutura proposta para o complexo de Pd(II) e a atribuição de cada hidrogênio (esquerda) e cada carbono (direita).

Nas Figuras 6 e 7, estão apresentados os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , respectivamente, com os hidrogênios e carbonos atribuídos de acordo com o apresentado na Figura 5.

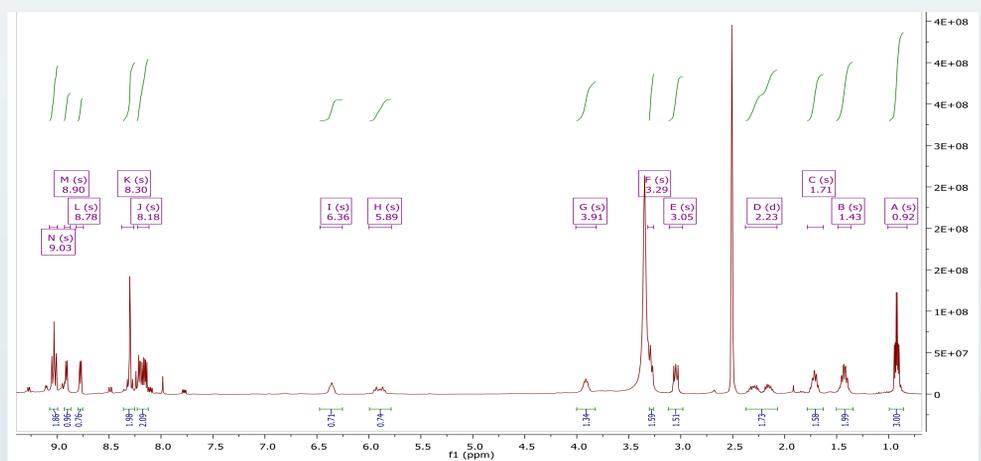


Figura 6. Espectro de ^1H do complexo de Pd(II) com os hidrogênios atribuídos.

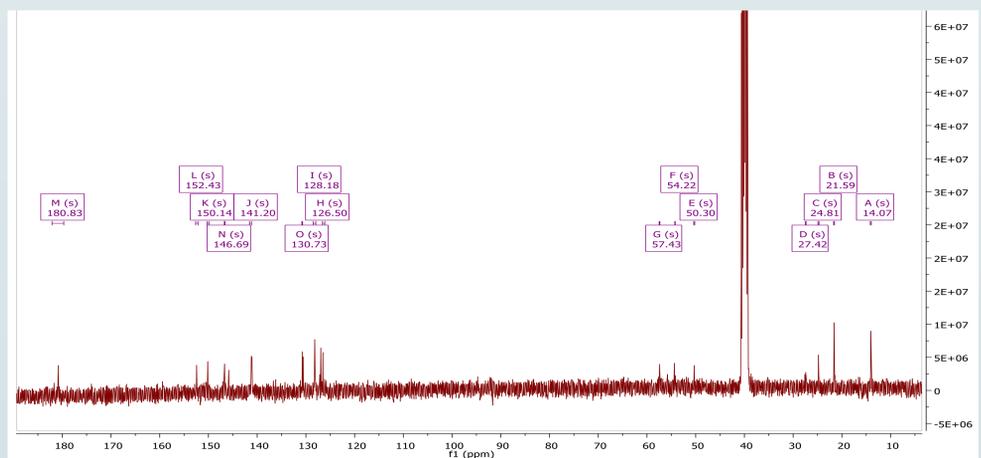


Figura 7. Espectro de ^{13}C do complexo de Pd(II) com os hidrogênios atribuídos.

Um ensaio preliminar de interação com biomoléculas também foi feito e consistiu em avaliar a interação dos novos complexos de Pd(II) e Pt(II) com a proteína lisozima por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).



As proteínas são responsáveis por diversas funções vitais do nosso organismo e podem ser um dos principais alvos de ação de metalofármacos. Dessa forma, analisar como os novos complexos interagem com tais moléculas é de extrema importância. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 8.

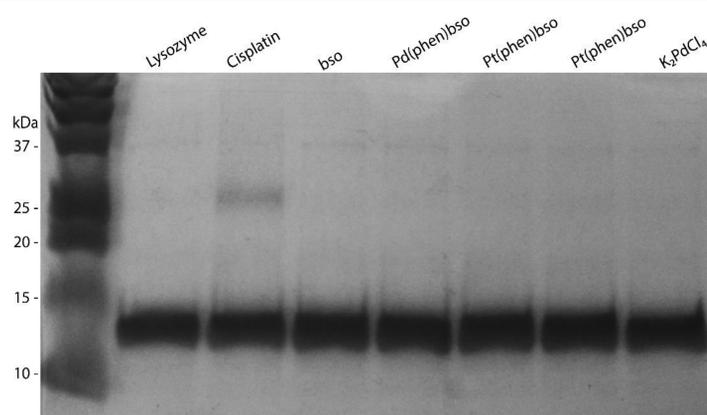


Figura 8. Resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) da interação da proteína lisozima e dos compostos de interesse. Da esquerda para a direita: ladder, lisozima, cisplatina, ligante livre, complexo de Pd(II), complexo de Pt(II) – 1ª síntese, complexo de Pt(II) - 2ª síntese, sal de Pd(II).

Como é possível observar, os complexos de Pt(II) e Pd(II) não demonstraram perfil de alteração na mobilidade eletroforética da lisozima nas condições experimentais consideradas, o que pode sugerir que as proteínas não são o alvo preferencial dos complexos sintetizados.

Conclusão

Ao longo desse trabalho, foram sintetizados dois complexos, um de Pd(II) e outro de Pt(II) com o ligante L-butionina sulfoximina, ambos utilizando a o-fenantrolina como ligante auxiliar. Com base nos resultados parciais as composições propostas para os complexos são: $[Pd(C_{20}H_{25}N_4O_3S)]PF_6 \cdot 1/2 H_2O$ e $[Pt(C_{20}H_{25}N_4O_3S)]PF_6 \cdot 1/2 H_2O$.

As análises por espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho e ressonância magnética nuclear apontam que a coordenação da L-butionina sulfoximina aos íons metálicos ocorre pelos grupos carboxilato e amino, conforme indicado na estrutura proposta na Figura 2.

A análise preliminar de interação com biomolécula, feita utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida indica que nenhum dos complexos interagiu e/ou modificou o perfil de mobilidade eletroforética da proteína lisozima.

Perspectivas

Nosso grupo de pesquisas pretende retomar os estudos de caracterização das espécies, com prioridade na repetição das análises elementares e termogravimétricas dos complexos de Pt(II) e Pd(II), assim como a realização de análises por ressonância magnética nuclear para o complexo de Pt(II).

Outra prioridade é o início dos ensaios para avaliação das possíveis atividades biológicas dos complexos apresentados, assim como estudos de interação com outras moléculas biológicas, como por exemplo o DNA.

Agradecimentos

A autora agradece ao CNPq (PIBIC) pelo fomento necessário para a realização deste projeto, assim como também é grata ao Prof. Dr. Pedro P. Corbi e ao doutorando Carlos M. Manzano pela orientação e co-orientação, respectivamente, nesse projeto. Carlos M. Manzano e Pedro Paulo Corbi agradecem à FAPESP (processos 2018/12062-4 e 2017/25995-6) pelo auxílio recebido.

Bibliografia

- Nunes, J. H. B.; de Paiva, R. E. F.; Cuin, A.; da Costa Ferreira, A. M.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P. (2016). *J. Mol. Struct.*, 1112, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.02.006>
- Orvig, C.; Abrams, M.J. (1999). *Chem. Rev.*, 99, 9, 2201-2204. <https://doi.org/10.1021/cr980419w>
- Fanelli, M.; Formica, M.; Fusi, V.; Giorgi, L.; Micheloni, M.; Paoli, P. (2016). *Coord. Chem. Rev.*, 310, 41-79. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.11.004>
- Miller, R. P.; Tadagavadi, R. K.; Ramesh, G.; Reeves, W. B. (2010). *Toxins*, 2, 11, 2490-2518. <https://doi.org/10.3390/toxins2112490>
- Corbi, P. P.; Massabni, A. C.; Costa-Neto, C. M. (2006). *J. Coord. Chem.*, 59, 11, 1101-1106. <https://doi.org/10.1080/00958970500452913>
- Fontes, A. P. S., César, E. T. & Beraldo, H. (2005). *Quím. N. Esc.*, 6, 4-6.
- McQuade, R. M.; Stojanovska, V.; Stavely, R.; Timpani, C.; Petersen, A. C.; Abalo, R.; Bornstein, J. C.; Rybalka, E.; Nurgali, K. (2018). *British J. Pharm.*, 175, 4, 656-677. <https://doi.org/10.1111/bph.14114>
- Kelland, L. (2007). *Nat. Rev. Cancer*, 7, 8, 573-584. <https://doi.org/10.1038/nrc2167>
- Mahmoud, W. H., Mahmoud, N. F., Mohamed, G. G., El-Sonbati, A. Z., & El-Bindary, A. A. (2015). *J. Mol. Struct.*, 1095, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.04.004>
- Sharaby, C. M.; Amine, M. F.; Hamed, A. A. (2017). *J. Mol. Struct.*, 1134, 208-216. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.070>
- Romero-Canelón, I.; Mos, M.; Sadler, P. J. (2015). *Med. Chem.*, 58, 19, 7874-7880. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00655>
- Griffith, O. W.; Meister, A. (1979). *J. Bio. Chem.*, 254, 7558-7560.
- Anderson, M. E. (1998). *Chem. Bio. Inter.*, 111-112, 1-14. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(97\)00146-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(97)00146-4)
- Prezioso, J. A.; FitzGerald, G. B.; Wick, M. M. (1992). *J. Invest. Derm.*, 99, 3, 289–293. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12616629>