SÍNTESE E ESTUDO DA INTERAÇÃO COM DNA DE UMA SÉRIE DE COMPLEXOS RUTÊNIO-ARENO CONTENDO O LIGANTE PIRIDINA

Luísa Viana Dattola (UEPG), Flávia Marszaukowski, Ivelise D. L. Guimarães, Patrícia Castellen, Juliana Paula da Silva, Márcio Peres de Araujo, Karen Wohnrath (Orientador), e-mail: karen.woh@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química

Química/ Química Inorgânica

Palavras-chave: Complexos rutênio-areno, interação com o DNA, metalofármacos.

Resumo

Os complexos de rutênio, configuram uma classe de potenciais agentes antitumorais e por possuírem mecanismo de ação diferente da cisplatina, esses complexos são considerados fortes candidatos a contornarem problemas como a resistência celular e efeitos colaterais. Assim, levando em consideração os benefícios e considerando que o mecanismo de ação dos mesmos pode ser descrito a partir de uma possível interação com o DNA, foi realizada a síntese de uma série de complexos de rutênio-areno obtidos a partir do dímero $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\mu\text{-}Cl)Cl]_2$ **(1)**, que consiste em um complexo neutro $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(Py)Cl_2]$ **(2)**, e de dois complexos catiônicos inéditos, com fórmula geral $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(Py)(Cl)(X)]PF_6$ (onde: X= ACN **(3)** e H_2O **(4)**). Para esses complexos foram realizados estudos de caracterização espectroscópica e de interação com o DNA, por meio de duas diferentes metodologias: viscosidade e titulação espectrofotométrica. Além dos testes com DNA, testes biológicos para indicar a atividade antibacteriana também foram realizados, os resultados indicam que os complexos não apresentam interação com o DNA. Os testes de disco de difusão mostraram que ambos os complexos catiônicos apresentaram uma pequena atividade frente às cepas bacterianas Gram-positivas. Esses resultados foram confirmados pela determinação da atividade mínima inibitória (CIM).

Introdução

O interesse no estudo de compostos de coordenação aplicados em tratamentos quimioterápicos, iniciou no final da década de 60, posterior a descoberta da atividade antitumoral apresentada pelo composto cisplatina[1]. Este complexo é um dos fármacos mais utilizados em tratamentos quimioterápicos, e tem a molécula de DNA como o alvo farmacológico[2]. Desta forma, vários medicamentos atualmente usados em terapias medicinais ou em fase de investigação clínica avançada, interagem com a rica estrutura da molécula de DNA covalentemente através da ligação direta do complexo ao DNA por suas bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato ou pelo modo não covalente: através de interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA, ou através da intercalação[3-4].

Apesar das interações entre outros complexos metálicos e o DNA, serem usualmente estudadas e reportadas na literatura, a natureza destas ligações, assim como suas geometrias, ainda é tema de discussões. Devido ao centro metálico dos compostos de coordenação serem carregados positivamente, os mesmos podem

ligar-se às biomoléculas negativamente carregadas. As interações covalentes entre complexos e DNA remetem a ligação química entre as moléculas. As interações não covalentes também são observadas, de modo que o DNA pode interagir reversivelmente com uma ampla variedade de espécies químicas que incluem água, íons metálicos e seus complexos, pequenas moléculas orgânicas e proteínas[5-6].

O modo de ação de complexos de rutênio também tem sido explorado. Alguns desses complexos possuem com capacidade de interagir com o DNA de forma intercalativa, tais como os complexos $[Ru(tpy)(ptp)]^{2+}$ (onde tpy= 2,2 ': 6',2'-terpiridina e ptp= 3-(1,10-fenantrolin-2-il)-as-triazino[5,6-f]-fenantreno)[7]. Os complexos de rutênio-areno fórmula geral $[Ru(\eta^6\text{-cimeno})Cl_2(L)]$ também interagem com as bases do DNA, causando o desenrolamento da dupla hélice assim como causando fusão bifásica ou inibição da atividade da enzima topoisomerase II[8].

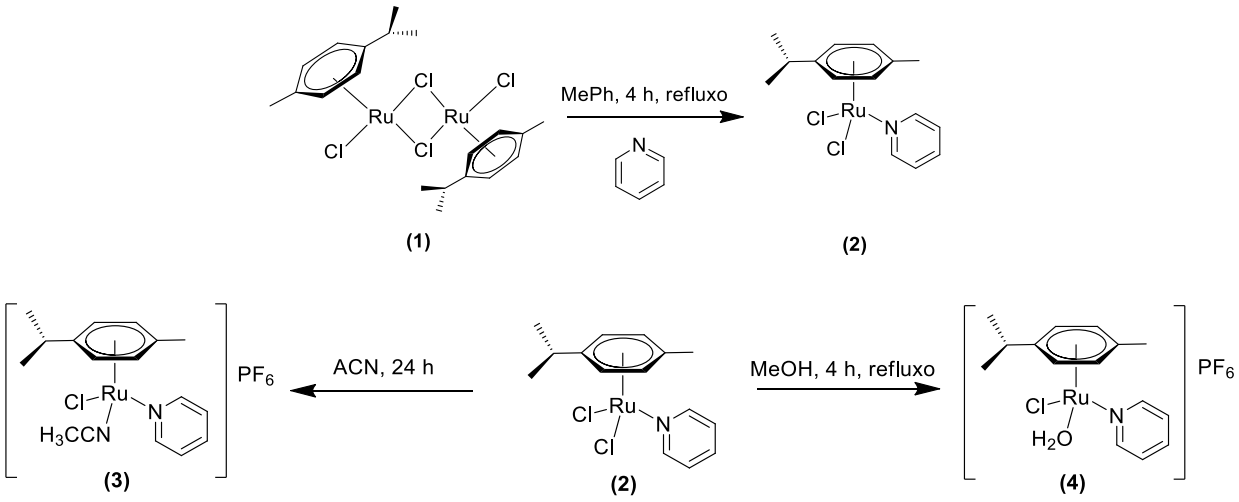
Devido a versatilidade dos complexos de rutênio-areno, seus compostos também têm sido estudados como agente antibacterianos com o objetivo de produzir novos medicamentos que abranjam as bactérias resistentes. Nessa perspectiva, o objetivo desse trabalho é sintetizar novos complexos de rutênio-areno, estudar seu modo de ação e explorá-los na atividade antibacteriana frente a bactérias gram positivas e negativas.

Material e Métodos

SÍNTESE DOS COMPLEXOS:

O complexo $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\square\text{-Cl})Cl]_2$ **(1)** foi utilizado como precursor para a síntese do complexo $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(Py)Cl_2]$ **(2)**, cuja síntese foi baseada no método descrito por Bennett, A.K. & Smith, M.A., 1974[9] e Rodríguez-Bárzano, A. *et al.* 2014[10] e posteriormente adaptada por Marszaukowski. F. *et al*, 2019[11], segundo ilustrado no Esquema 1. A síntese dos complexos catiônicos inéditos $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(Py)(ACN)Cl]PF_6$ **(3)** e $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(Py)(H_2O)Cl]PF_6$ **(4)** foi realizada a partir do complexo **(2)** de acordo com rota sintética representada no Esquema 1**.**

Esquema 1: Representação da síntese do complexo neutro **(2) e** dos complexos iônicos **(3)** e **(4)**.



TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

A caracterização dos complexos foi realizada por técnicas espectroscópicas (UV-Vis, FTIR e RMN ^{1}H), eletroquímica e análises físico químicas (Ponto de fusão, Condutividade molar e Teste de solubilidade).

TESTES BIOLÓGICOS

A interação com o DNA foi estudada por meio de duas diferentes metodologias: viscosidade e titulação espectrofotométrica. Os testes biológicos para avaliar a atividade antibacteriana foram realizados pela técnica de disco de difusão e pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) na presença de bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* e uma espécie Gram negativa (*Escherichia coli*).

Resultados e Discussão

A substituição do ligante Cl- pelos ligantes CH_3CN e H_2O para a formação dos complexos catiônicos [Ru(η^6-*p*-cimeno)(Py)(Cl)(X)]PF_6 (onde: X= ACN **(3)** e H_2O **(4)**), foi constatada pelo aumento dos valores de condutividade de 35,6 $\mu S.cm^{-1}$ **(2)** para 145,3 e 132,0 $\mu S.cm^{-1}$ para os complexos **(3)** e **(4)**, respectivamente. Os espectros de RMN ^{1}H confirmaram essa substituição pelo sinal adicional dos respectivos ligantes ACN **(3)** e H_2O **(4)** em 1,76 (d) e 2,24 (d) ppm, respetivamente.

Os espectros UV-Vis para os complexos catiônicos mostraram-se diferentes do espectro do complexo **(2)**, o qual apresenta apenas uma banda no UV e outra na região visível do espectro eletromagnético. Estes espectros apresentam duas bandas de transição de transferência de carga em 250 e 350 nm (com alto valor de absortividade molar entre 7.000 – 28.200 $mol\text{-}1.L.cm^{-1}$) e uma transição d-d próxima a 400 nm.

No estudo eletroquímico, observou-se nos voltamogramas cíclicos picos referentes à oxidação do ligante clorido (~1,3 V) seguido da sua posterior labilização, além do processo redox do par redox Ru(II)/Ru(III) (~1,6 V). Na região catódica, os picos observados são atribuídos à redução do ligante piridina (~-1,1 V). A janela de potencial dos complexos **(3)** e **(4)** é a mesma do complexo **(2)**.

Nos testes antibacterianos por meio da técnica de disco de difusão constatou-se que ambos os complexos **(3)** e **(4)** apresentaram atividade antimicrobiana para todas as cepas de bactérias testadas. Porém, melhores valores de halos de inibição são observados para cepas de bactérias Gram positivas. Devido a esses resultados foram realizados testes para identificar o valor da concentração mínima inibitória (CIM), os quais são ilustrados na Tabela 1. Os resultados ilustram uma moderada atividade antibacteriana em especial para as cepas de bactérias Gram-positivas, confirmando os resultados obtidos no teste de disco de difusão.

Tabela 1: Resultados de concentração inibitória mínima em mg/mL.

Complexo	*E. coli*	*S. aureus*	*B. subtilis*
(2)	1,33	1,33	1,33
(3)	>1,33	0,74	0,74
(4)	>1,33	0,37	0,62

ISSN 1676-0093

Em relação ao modo de ação, os complexos **(3)** e **(4)** não apresentam nenhuma interação com o DNA, podendo interagir por meio de outras maneiras no meio biológico.

Conclusões

As sínteses dos dois complexos catiônicos [Ru(η^6-*p*-cimeno)(Py)(Cl)(X)]PF_6 (X= ACN **(3)** e H_2O **(4)**) foram realizadas e obteve-se complexos inéditos estáveis. A substituição do ligante Cl- tornou os novos complexos mais solúveis em água. A partir dos testes biológicos, os complexos inéditos apresentam atividade moderada melhorada contra bactérias devido aos menores valores de CIM em relação ao **(2)** e que os mesmos não interagem com o DNA.

Agradecimentos

Ao CNPq, UEPG, C-LABMU e a University of Lethbridge pelas análises de RMN. Ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, por disponibilizar a infraestrutura necessária para realizar os testes antibacterianos.

Referências

[1] ROSEMBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; Mansour, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**. v. 222, p. 385, 1969.

[2] TUREL, I.; KLJUN J. Interactions of metal ions with DNA, its constituents and derivatives, which may be relevant for anticancer research. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. v. 11, p. 2661, 2011.

[7] CHAO, H.; MEI, W. J.; HUANG, Q. W.; JI, L. N. DNA binding studies of ruthenium(II) complexes containing asymmetric tridentate ligands. Journal of Inorganic Biochemistry, v.92, p. 165-170, 2002.

[4] BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. DNA-binding drugs caught in action: the latest 3D pictures of drug-DNA complexes. **DaltonTransactions**. v. 3, p. 399, 2009.

[3] KEENE, F. R.; SMITH, J. A.; COLLINS, J. G. Metal complexes as structure selective binding agents for nucleic acids. **Coordination Chemistry Reviews**. v. 253, p. 2021, 2009.

[5] REEDJIK, J. New clues for platinum antitumor chemistry: Kinetically controled metal binding to DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 7, p. 3611-3616, 2003.

[6] BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalointercaladores. **Rev. Virtual Quim**. v. 7, p. 1998-2016, 2015.

[8] MITRA, R.; DAS, S.; SHINDE, S. V.; SINHA, S.; SOMASUNDARAM, K.; SAMUELSON, A. G., Anticancer Activity of Hydrogen-Bond-Stabilized HalfSandwich RuII Complexes with Heterocycles. **Chemistry – A European Journal**, v. 18, n. 39, p. 12278-12291, 2012.

[9] Bennett, M. A.; Smith, A. K., Arene ruthenium (II) complexes formed by dehydrogenation of cyclohexadienes with ruthenium (III) trichloride, **Dalton Transactions**, v. 2, p. 233-241, 1974.

[10] RODRÍGUEZ-BÁRZANO, A., et al. Ruthenium Halide Complexes as N-Alkylation Catalysts**. European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 11, p. 1974-1983, 2014.

[11] MARSZAUKOWSKI.F., et al. Ruthenium (II)-arene complexes with monodentate aminopyridine ligands: Insights into redox stability and electronic structures and biological activity.**Journal of Organometallic Chemistry,** Ponta Grossa, v.881, p. 6678, 2019.

ISSN 1676-0093