

# ESTUDOS DE CICLOPALADADOS DERIVADOS DE TRIAZÓIS FUNCIONALIZADOS COMO AGENTES ANTITUMORAIS

Karina da Costa Portugal <sup>1</sup>; Luiz Marcos de Lira Faria <sup>2</sup>; Antonio Carlos Fávero  
Caires <sup>3</sup>

Estudante do Curso de Química; e-mail: Karina.belquim@gmail.com<sup>1</sup>  
Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail luizml@iq.usp.br<sup>2</sup>  
Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail caires@umc.br<sup>3</sup>

**Área do Conhecimento:** Ciências Exatas

**Palavras-chaves:** Antitumoral; Ciclopaladado; Triazol; Nanocapsula; Liberação Controlada

## INTRODUÇÃO

Nosso grupo de pesquisas em Organometálicos, do CIIB da Universidade de Mogi das Cruzes tem conseguido inúmeros avanços na elucidação mecanística e no “*design*” de novas drogas organometálicas derivadas de compostos paladaciclos bifosfínicos para combate do câncer. Dentre esses complexos destacam-se aqueles derivados do agente de ciclometalação N,N-dimetil-1-fenetilamina (*dmpa*) e do ligante 1,1-bis(difenilfosfina) ferroceno (*dppf*). De forma particular o paladaciclo iônico mononucleado [Pd(C<sup>2</sup>,N-S<sup>(-)</sup>(*dmpa*)(*dppf*)]Cl teve comprovada ação biológica sobre os lisossomos de diversas linhagens de células de tumores malignos humanos. O referido complexo foi capaz de desencadear a apoptose celular pela ruptura dessas organelas. Dentre as linhagens combatidas eficazmente por esse composto, inclui-se a linhagem de células K562, responsável pela leucemia mielóide crônica, sendo esta, resistente a qualquer tipo de quimioterapia existente. Esse composto, patenteado pela FAPESP, encontra-se hoje em fase de testes clínicos (FASE I), de responsabilidade do INCA da FIOCRUZ. A necessidade do ligante bifosfínico *dppf*, na estrutura molecular do complexo, bem como as dependências enantioméricas do agente de ciclometalação *dmpa* para a eficácia biológica do paladaciclo já foram demonstrados em publicações anteriores. Neste trabalho, nossa intenção maior foi demonstrar a importância do agente de ciclometalação *dmpa* e estabelecer correlações entre a estrutura e atividade antitumoral do composto denominadas na literatura especializada de SARs (*Structure Activity Relationships*). Dessa forma, sintetizamos novos paladaciclos derivados do ligante bifosfínico *dppf* substituindo-se o anel de ciclometalação *dmpa* pelo triazol funcionalizado 1-Propargil-1-piridinil-Benzotriazol (*ppbtz*). Esse agente de ciclometalação foi por nós eleito por possuir propriedades estruturais bem diferentes do *dmpa*, dentre as principais diferenças mencionamos a planaridade do ligante triazólico funcionalizado ligado ao íon de paládio central e a existência de um centro pró-quiral na molécula, sendo um carbono sp<sup>2</sup> ligado diretamente no centro metálico que poderia trazer como conseqüências, mudanças na reatividade e na atividade biológica do paladaciclo. Considerando a comprovada eficiência biológica dos novos ciclopaldados aqui estudados, iniciamos testes de liberação controlada dos mesmos, através da utilização de carreadores que permitem o controle da velocidade de liberação em função das condições do meio, como o pH, dentre os sistemas de liberação, optamos por

nanopartículas constituídas por polímeros biocompatíveis. A necessidade de encapsular os ciclopaladados é devido a hidrólise sofrida pelos complexos em meio ácido, portanto foi desenvolvido neste trabalho um sistema inédito de liberação controlada por pH, na qual, a parte ativa do sistema consiste de uma nanocápsula sintetizada a partir de monômeros iônicos e hidrofóbicos.

### **OBJETIVOS**

Demonstrar que o agente de ciclometalação exerce grande influência nas relações Estrutura Molecular X Atividade Biológica de Paladaciclos Bifosfínicos aplicados como agentes antitumorais contra a linhagem de células K562. Síntese de nanocápsulas com características mais hidrofóbicas que possam incorporar derivados triazólicos de paladaciclos. Teste de liberação controlada “*in vitro*” dos novos complexos com atividade antitumoral em diferentes valores de pH.

## METODOLOGIA

Funcionalizamos inicialmente o triazol 1-Propargil-1-H-Benzotriazol com 2-bromopiridina usando  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , previamente por nós sintetizado como catalisador. Os complexos de paládio foram então sintetizados empregando-se técnicas de Schlenk em linha de vácuo-argônio. A partir do dímero  $[\text{Pd}(\text{ppbtz})(\mu\text{-Cl})]_2$  obtido pela reação entre o 1-Propargil-1-piridinil-Benzotriazol (*ppbtz*) e  $\text{Li}_2\text{PdCl}_4$ , sintetizamos os compostos bifosfinicos  $[(\text{Pd}\text{-ppbtz})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$  (*tze11*),  $[(\text{Pd}\text{-ppbtz})(\mu\text{-dppe})]\text{Cl}$  (*tze12*),  $[(\text{Pd}\text{-ppbtz})_2(\mu\text{-dppf})\text{Cl}_2]$  (*tzf11*) e  $[(\text{Pd}\text{-ppbtz})(\mu\text{-dppf})]\text{Cl}$  (*tzf12*), utilizando as bifosfinas 1, 2-bis difenilfosfina-etano (*dppe*) e 1,1'-bis (difenilfosfina) ferroceno (*dppf*) em diferentes proporções estequiométricas. Os compostos *tzf11* e *tzf12* foram testados como agentes antitumorais na linhagem de células. A curva de células viáveis foi obtida pelo método de redução do MTT-tetrazolium, seus resultados foram comparados com ciclopaladados muito eficientes obtidos anteriormente derivados do *dmpa*. Os novos ciclopaladados derivados do *ppbtz*, foram caracterizados pela técnica de FTIR, RMN ( $^1\text{H}$ ) e análise elementar (CHN). A suspensão de nanocápsulas foi preparada com o polímero poli(metacrilato de sódio-co-metacrilato de metila) previamente sintetizado, onde adicionamos o ciclopaladado solubilizado em metanol para incorporar nas micropartículas nanorrevestidas. Os testes de liberação controlada com os compostos iônicos *sf12* e *tzf12* nas formas pura e nanoencapsulada, foram realizados pelo método de difusão em membrana de diálise para condições ácidas e básicas, acompanhados por Espectroscopia UV-Visível na faixa de 200-800 nm utilizando-se um aparelho marca Varian, modelo Casy 50C ONC.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Ppbtz:** RMN  $\text{H}^1$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm): 5.47 t (2H,  $-\text{CH}_2-$ ); 8.07-8.38 dd (1H, 2-Br-Py); 7.51-7.85 td (1H, 2-Br-Py); 7.47-7.50 t (1H, 2-Br-Py); 7.38-7.43 t (1H, 2-Br-Py); 8.01-8.07dt (1H, TZ); 7.51-7.64 dt (1H, TZ); 7.27-7.47 m (1H, TZ); 7.50-7.54 m (1H, TZ); ausência triplete (1H,  $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}-\text{TZ}$ ).

FTIR/ATR (ZnSe-45°): Estiramentos típicos do anel piridínico 2-substituídos v (1433, 1471, 1572, 1615  $\text{cm}^{-1}$ ); Vibração do anel piridínico 2-substituído fora do plano acoplada a 4 vibrações *wag* de Hidrogênios adjacentes (780 $\text{cm}^{-1}$ ); Estiramentos do anel aromático do triazol (2900-3000  $\text{cm}^{-1}$ ).

**Dímero  $[\text{Pd}(\text{ppbtz})(\mu\text{-Cl})]_2$ :** RMN  $\text{H}^1$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (DMSO): 1.17 dd (4H,  $-\text{CH}_2-$ ); 7.43-7.76 m-br (14H, aromáticos); 8.00-8.39 m-br (2H, aromáticos-Py).

FTIR (KBr): Vibração do anel piridínico 2-substituído fora do plano acoplada a 4 vibrações *wag* de Hidrogênios adjacentes (780 $\text{cm}^{-1}$ ), Estiramentos do anel aromático do triazol (2800-2900 $\text{cm}^{-1}$ ).

**Tzf 11:** RMN  $H^1$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  (DMSO): 2.08 s (4H,  $-CH_2-$ ); 4.23 s (5H-Cp); 4.53 s (5H-Cp); 7.48-7.56 m (20H, aromáticos  $-C_6H_5$ ); 7.59-7.61 m (8H, aromáticos-TZ-ciclometado); 7.84-7.90 m- br (8H, aromáticos-Py-coordenada ao Pd).

**Biológico:**  $IC_{50}=5,5\mu M$

**Tzf 12:** RMN  $H^1$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  (DMSO): 2.08 s (2H,  $-CH_2-$ ); 4.23 s-br (5H-Cp); 4.53 s-br (5H-Cp); 7.14-7.50 m (20H, aromáticos  $-C_6H_5$ ); 7.52-7.59 m (4H, aromáticos-TZ-ciclometado); 7.84-7.88 m- br (4H, aromáticos-Py-coordenada ao Pd).

**Biológico:**  $IC_{50}=38,3\mu M$  contra  $IC_{50}=4,1\mu M$  do análogo com dmpa

Ficou evidenciado que os ciclopalladados ligam-se às nanocápsulas através de grupos carboxila existentes no polímero pelo desaparecimento das bandas de absorção entre  $1600-1750\text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho. Já o aparecimento da forte banda de absorção entre  $1000-1300\text{ cm}^{-1}$  que observamos mostra claramente que grupos aromáticos das bifosfinas estão direcionados para a superfície da nanocápsula. Este fato é evidenciado por esta região ser característica de movimentos vibracionais de *Rocking* de Hidrogênios aromáticos no plano. As nanocápsulas por afinidade dos anéis aromáticos devem interagir entre si para formar estruturas supramoleculares planares. A parte iônica das nanocápsulas (metacrilato de sódio) foi projetada para responder ao pH do meio de liberação da seguinte maneira: em meio ácido (abaixo  $pK_a$  do poli (ácido metacrílico)) tem-se a forma protonada da nanocápsula e em meio básico (acima do  $pK_a$ ) tem-se a forma aniônica, considerando que a nanocápsula é porosa, o tamanho dos poros é controlado, em parte (após a síntese do material) pela repulsão entre cargas elétricas presentes no polímero. Assim, se predominar o polímero neutro, não há cargas para serem repelidas nos poros e estes por sua vez permanecem no seu estado mais fechado. Além disso, a pressão osmótica é pequena e a entrada de solvente no sistema (o que facilita a saída da droga) é diminuída, por isso espera-se uma menor velocidade de liberação da droga na condição de baixo pH. Foi exatamente este o comportamento verificado nas curvas de liberação, onde os complexos ficam mais retidos, a ponto de ser liberado apenas uma pequena quantidade em meio ácido, fato este que pode ser útil na prevenção da hidrólise da mesma no estômago.

## CONCLUSÕES

Conforme a hipótese inicial, o agente de ciclometalação exerce um enorme papel no efeito biológico dos complexos, verificamos esse fato nos diferentes valores de  $IC_{50}$  encontrados, sendo estes,  $38,3\mu M$  para o derivado triazólico tzf12 e  $4,1\mu M$  para o seu complexo análogo sf12. Existe entretanto uma enorme dependência farmacodinâmica envolvendo a estrutura dos complexos com a linhagem de célula tumoral ensaiada, verificada pelo alto grau de eficiência do complexo tzf11, onde encontramos um  $IC_{50}$  igual a  $5,5\mu M$ . Os testes de liberação controlada foram efetivos em proteger a droga contra hidrólise, uma vez que sua liberação só foi verificada em meio básico, permitindo assim que se desenvolva sistema de liberação controlada oral, ou seja, sistema que tem a proteger a droga do pH estomacal.

## AGRADECIMENTOS

Prof. Dr. André Fernando de Oliveira e Dra. Astréa F. de Souza Silva do LAPEQ/UMC- pelo auxílio na validação de métodos analíticos.

Prof. Dr. Tiago Rodrigues e a Mestranda Vivian Matsukura dos Santos pelo ensaio biológico dos compostos.

CNPq, FAEP/UMC e FAPESP pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barbosa, C. M. V.; Oliveira, C. R.; Nascimento, F. D.; Smith, M. C. M.; Fausto, D.; Soufen, M. A.; Sena, E.; Araújo, R. C.; Tersariol, I. L. S.; Bincoletto, C.; Caires, A.C.F.; “Biphosphinic palladacycle complex mediates lysosomal membrane permeabilization and cell death in K562 leukemia cells”. *European Journal Of Pharmacology*, **2006**, 542, 37-47.

Bincoletto, C.; Tersariol, I. L. S.; Oliveira, C. R.; Dreher, S. D.; Fausto, D. M.; Soufen, M. A.; Nascimento, F. D.; Caires, A. C. F.; “Chiral cyclopalladated complexes derived from N,N-dimethyl-1-phenethylamine with bridging bis (diphenylphosphine) ferrocene ligand as inhibitors of the cathepsin B activity and as antitumoral agents”. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2005**, 13, 3047-3055.

Rodrigues, E. G.; Fausto, D. M.; Silva, L. S.; Hayashi, M. S.; Dreher, S.; Santos, E. L.; Pesquero, J. B.; Travassos, L. R.; Caires, A. C. F.; “Cyclopalladated Compounds as Chemotherapeutic Agents: Antitumor Activity Against a Murine Melanoma cell Line”. *International Journal of Câncer*, **2003**, 107, 498-504.

Schaffazick, S. S.; Freitas, L. L.; Pohlmann, A. R.; Guterres, S. S.; “Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos”. *Química Nova*, **2003**, 26, 726.