



Inclusão do complexo de Au(II)Cl em β -ciclodextrina com ação leishmanicida.

Palavras-Chave: β -ciclodextrina; Au(I); leishmaniose.

Autoras:

Gabrielle Albanex Gomes – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Unicamp

Ma. Jennyfer Castro da Silva - Instituto de Química - Unicamp

Prof^(a). Dr^(a). Camilla Abbehausen – Instituto de Química - Unicamp

INTRODUÇÃO:

A leishmaniose tegumentar americana é considerada um problema de saúde pública, sendo uma doença tropical negligenciada que se manifesta de duas formas diferentes, a forma cutânea e a forma visceral. O parasita *Leishmania* é transmitido através do vetor flebotomíneo, que no repasto sanguíneo atinge os tecidos epiteliais na forma promastigota e se replica em células fagocitárias se diferenciando em amastigotas. A doença possui maior incidência em regiões tropicais como América do Sul e Ásia e as opções de fármacos disponíveis são atualmente escassas, principalmente para a manifestação cutânea da doença (BOELAERT; SUNDAR, 2014).

Os estudos de metalofármacos de ouro para tratamento da leishmaniose cutânea foram datados pela primeira vez em 1989, e desde então demonstram atividade promissora (ROSA *et al.*, 2021). Os ligantes N-carbenos-heterocíclicos (NHC) também são utilizados como potenciais ligantes organometálicos farmacológicos, principalmente coordenados a Au(I). O complexo apresenta potencial terapêutico devido a características químicas do grupo NHC como doador σ e aceptor π , o que contribui na estabilização do estado de oxidação e diminui a labilidade do complexo formado.

Em nosso grupo de estudos, uma série de complexos utilizando estruturas NHC vem sendo sintetizados e demonstraram bons resultados no combate à leishmania em células *in vitro*. Os complexos metálicos Au(II)Cl e Au(I)NHC(SBTz) (Figura 1) em ensaios preliminares exibiram atividades consideráveis contra a leishmania (ROSA *et al.*, 2022). No entanto, esses compostos candidatos a metalofármacos apresentaram baixa solubilidade em água limitando os estudos *in vitro* e apresentando baixa biodisponibilidade.

A formação de complexos de inclusão com β -ciclodextrina (β -CD) é uma das tecnologias utilizadas na indústria farmacêutica que visa aumentar a solubilidade de compostos insolúveis em meio aquoso e melhorar a biodistribuição de fármacos. As ciclodextrinas (CD) são oligossacarídeos que formam uma estrutura de cone, com a cavidade hidrofóbica e uma superfície mais hidrofílica. A cavidade hidrofóbica é responsável por formar complexos de inclusão (host-guest) com moléculas mais hidrofóbicas (SZEJTLI, 1998). As CD são classificadas de acordo com o tamanho de sua cavidade, que é afetada conforme o número de grupos glicopiranoses sendo α -ciclodextrina, β -ciclodextrina e γ -ciclodextrina contendo 6, 7 e 8 grupos piranoses respectivamente (Figura 2). (BENDER; KOMIYANA, 1978).

Com o objetivo de melhorar a solubilidade em água dos compostos sintetizados e candidatos a metalofármacos, este projeto consistiu em estudar métodos de inclusão entre β -CD e os complexos metálicos NHC. Na primeira etapa do trabalho, foi realizado o estudo da inclusão entre β -CD e Au(I)(Imes)(SBTz), no qual

IMes - 1,3-Dimesitil-Imidazolina-2-Ilideno e SBTz - 1,3-Benzotiazol (Figura 2). Já havíamos detectado que o ligante IMes é muito volumoso para inclusão em β -CD e o ligante SBTz poderia ser uma boa opção de formação de complexo de inclusão. Apesar do ligante SBTz formar um complexo de inclusão com β -CD, sua labilidade faz com que o processo de inclusão gere uma descoordenação do ligante, resultando no ligante incluído e o Au(I) descartado na lavagem.

Em uma segunda etapa deste projeto, foi proposto a inclusão entre β -CD e o composto metálico Au(IBn)Cl. Após atestada a inclusão por meio do RMN de ^1H , o composto seguirá para mais análises químicas e por fim para a análise biológica, na qual será realizado um comparativo da atividade do complexo incluído e do complexo não incluído.

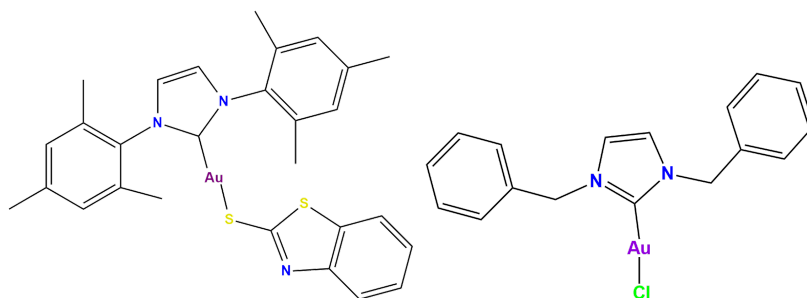


Figura 1. Au(I)NHC(SBTz); Au(IBn)Cl.

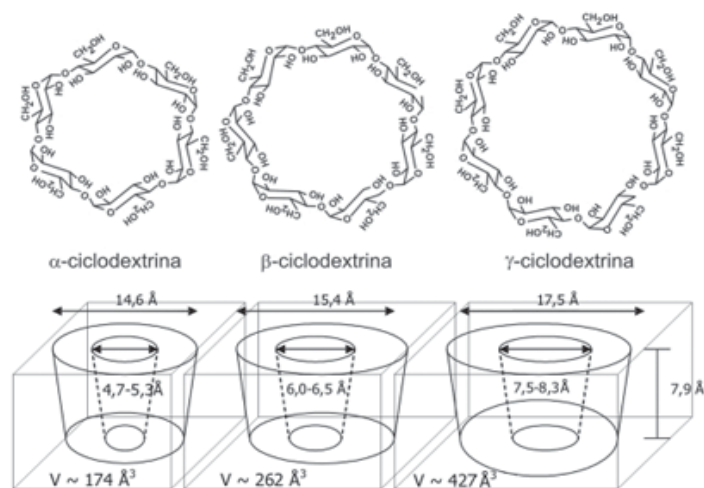


Figura 2. Esquema representando as dimensões aproximadas. Da esquerda para direita: α -CD, β -CD e γ -CB. (VENTURINE *et al*, 2008)

METODOLOGIA:

As metodologias realizadas para a inclusão do complexo consistiu em três diferentes etapas: síntese do ligante IBn; síntese do complexo Au(IBn)Cl e inclusão do complexo Au(IBn)Cl em β -CD através do método de solução aquosa.

Síntese do Tetrafluoroborato de 1,3-dibenzil-1H-imidazol-3-io (IBn):

A síntese do ligante IBn consistiu em uma reação inicial entre 18 mmol de paraformaldeído (0,52 g) e 18 mmol de benzilamina (2 mL) em 20 mL de tolueno. A mistura foi agitada durante 30 minutos e em temperatura ambiente. Após isso, foi resfriada a 0°C , seguida de adição de mais 1 equivalente molar de benzilamina e mantida sob agitação por mais 40 minutos. Após esse tempo, foi adicionado 23 mmol de HCl (2 mL, 12 mol/L), a mistura foi aquecida até 25°C e por fim adicionado 18 mmol de glicoxal. Após esse processo, a mistura foi aquecida até 50°C e permaneceu sob agitação durante 12 h. Após esse período, foi resfriada em temperatura ambiente (25°C) e foram adicionados 20 mL de diclorometano, 10 mL de água destilada e 23 mmol (2,4g) de tetrafluoroborato de

amônio e deixou-se sob agitação até a completa dissolução do sal. Formou-se uma fase aquosa e duas fases orgânicas compostas de tolueno e diclorometano. Ao final foi realizado um processo de extração da fase orgânica na fase aquosa utilizando diclorometano, formando uma fração orgânica que foi unida à anteriormente separada, seca com sulfato de sódio e o solvente removido à pressão reduzida. O sólido obtido foi recristalizado em diclorometano:água 5:5 mL.

Síntese do complexo cloro[1,3-dihidro-1,3-bis(benzil)-2H-imidazol-2-ilideno]ouro(I) [Au(IBn)Cl]:

Em um balão de reação 8,0 mL de diclorometano foi adicionado, 0,30 mmol de [Au(tht)Cl] (0,07g), 0,40 mmol de IBn (0,134g) e 2,0 mmol de cloreto de tetrametilamônio (0,213g). Após 30 minutos de agitação foi adicionado 6,0 mmol de carbonato de potássio (0,833g) e permaneceu sob agitação por 2,5 horas. A suspensão foi filtrada em plug de Celite e a solução evaporada a pressão reduzida, após rotaevaporação foi adicionado o menor volume possível de diclorometano para solubilização do sólido e 8,0 mL de éter etílico foi adicionado lentamente para a precipitação de um sólido branco, que posteriormente foi lavado com 50 mL de água destilada.

Inclusão do Au(IBn)Cl em β -CD através do método de solução aquosa:

Foram solubilizados 4,14 mmol (0,47g) de β -CD em 80 mL de água destilada. A essa solução foi adicionado cerca de 2,1 mmol de Au(IBn)Cl (0,1g) formando uma suspensão que foi mantida sob agitação e temperatura em 60°C durante aproximadamente 85 horas. Após esse tempo, a solução resultante foi filtrada para a remoção de resíduos e evaporada à pressão reduzida.

Todos os compostos obtidos foram verificados por RMN de ^1H .

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O ligante IBn foi obtido e confirmado através da técnica de espectroscopia por RMN de ^1H (Figura 3) demonstrando ausência de contaminantes. É possível observar no espectro as regiões correspondentes a cada hidrogênio da molécula, sendo em 5,42 ppm referente aos hidrogênios do grupo CH_2 (H6), em 9,38 ppm ao hidrogênio do carbeno (H9), entre 7,39-7,42 ppm os hidrogênios dos anéis aromáticos (H1-H5) e em 7,82 ppm os hidrogênios do anel imidazólico (H7-H8).

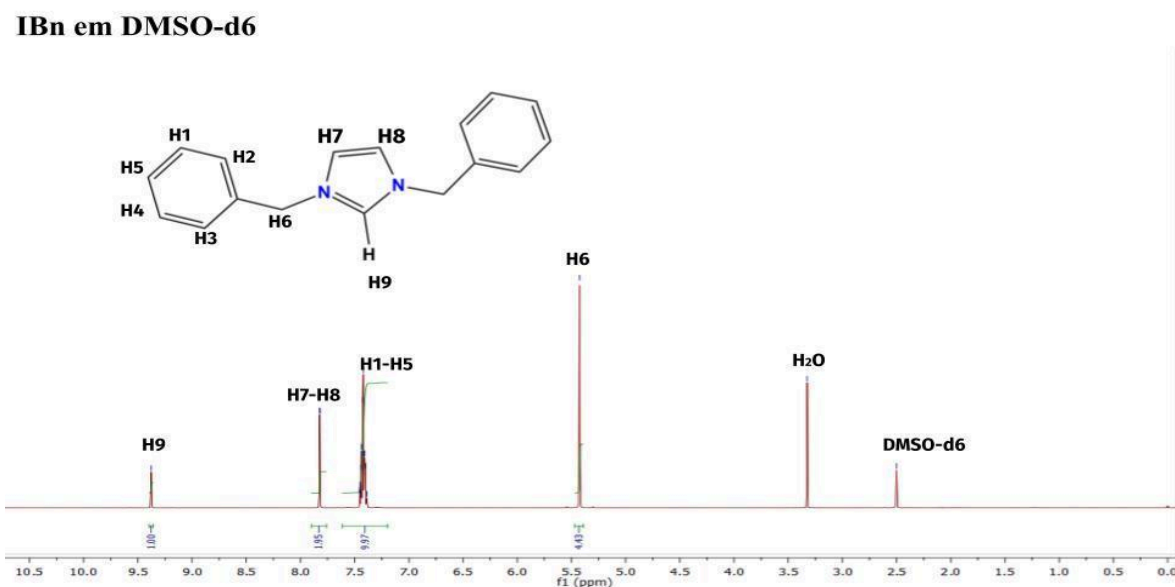


Figura 3. Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6) obtido do ligante IBn.

Posteriormente o ligante IBn foi submetido a uma reação com Au(THT)Cl para a formação do Au(IBn)Cl, resultando em um complexo organometálico neutro, confirmado utilizando a técnica de RMN ^1H . O espectro obtido (Figura 4) mostrou em torno de 5,42 ppm os hidrogênios do grupo CH_2 (H6) da molécula, correspondendo

a 4 hidrogênios no total já que a molécula é simétrica. Em 7,35-7,47 ppm é correspondente a região dos aromáticos (H1-H5) e em 7,75 ppm os hidrogênios do anel imidazólico (H7-H8).

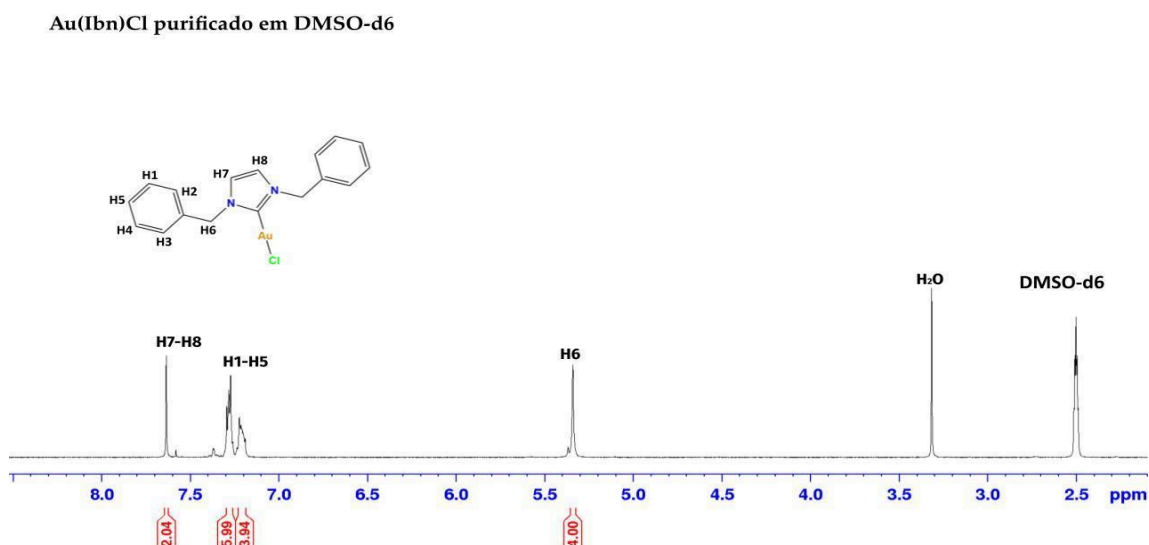


Figura 4. Espectro de RMN de ¹H (DMSO-d₆) do complexo Au(Ibn)Cl

Após a obtenção do complexo, seguiu-se para a etapa de inclusão em β-CD através da metodologia já descrita. O espectro de RMN de ¹H realizado em D₂O (água deuterada) mostrou que a inclusão entre o complexo Au(Ibn)Cl e β-CD ocorreu em uma proporção de 1:3, respectivamente. A proporção é verificada integrando os sinais do complexo organometálico em relação ao H₆, que é referente ao grupo CH₂ (em 5,25 ppm) para quatro hidrogênios e a partir disso, esse sinal é utilizado como referência para integrar os demais sinais no espectro. Para a molécula de β-CD, o valor da integral apresentado para o H_a (em 5,1 ppm) é dividido por sete, uma vez que cada β-CD apresenta sete anéis glicopiranoses. Assim, o valor da razão da integral do H_a apresenta uma quantidade de 2,8 ,aproximadamente 3, moléculas de β-CD para uma molécula do complexo Au(Ibn)Cl. No espectro em torno de 7,1 ppm encontram-se os hidrogênios do anel imidazólico (H7-H8) presentes no complexo e em 7,34-7,4 ppm os hidrogênios correspondentes aos anéis aromáticos (H1-H5). Já em relação à molécula de β-CD, entre 3,8-3,9 ppm encontram-se acoplados em um multipletos os hidrogênios H_c, H_g, H_f e H_e indicados na molécula, e em 3,6-3,7 ppm os hidrogênios próximos as hidroxilas (H_b e H_d).

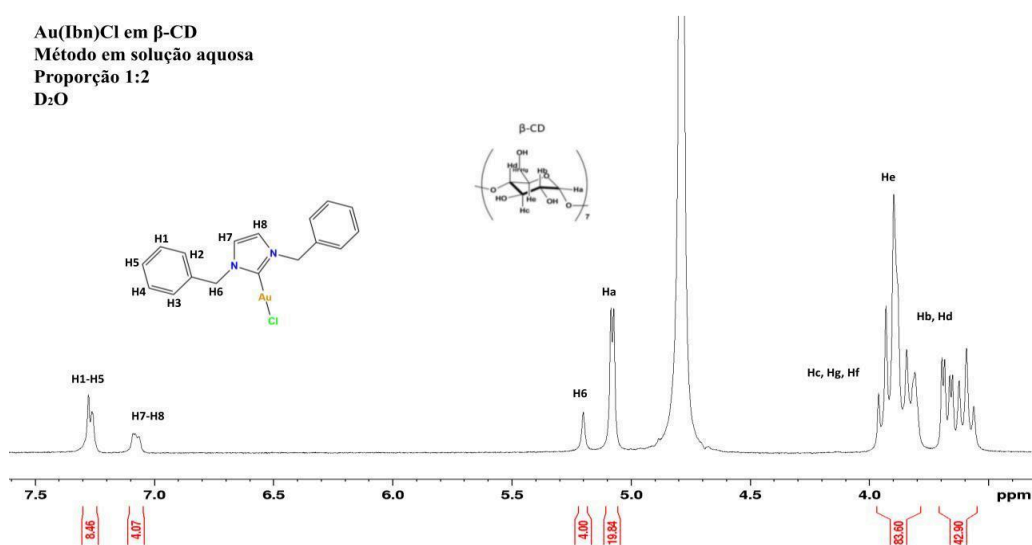


Figura 5. Espectro de RMN de ¹H (D₂O) da inclusão Au(Ibn)Cl em β-CD

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS:

A inclusão entre complexo Au(II)Cl e β -CD ocorreu de maneira promissora e inédita. A hipótese sugerida é que os grupos benzílicos do complexo se aproximem das β -CD através de interações hidrofóbicas entre os grupos aromáticos e as cavidades das moléculas, resultando em um complexo de inclusão. Para o produto obtido, além da técnica de espectroscopia por RMN de ^1H , serão realizadas análises como NOESY (RMN 2D), infravermelho, RMN de ^{13}C , análise elementar de CHN, ICP-OES para quantificar ouro, teste de estabilidade por RMN de ^1H e UV-Vis. Após as caracterizações, o composto será testado em análise biológica em células contaminadas com *Leishmania spp* com a finalidade de comparar resultados com o complexo não incluído.

BIBLIOGRAFIA:

- ABBEHAUSEN, Camilla; AIRES, Rochanna L; FONTES, Josielle V; MIGUEL, Danilo, C; ROSA, Leticia. A “Golden Age” for the discovery of new antileishmanial agents: Current status of leishmanicidal gold complexes and prospective targets beyond the trypanothione system. **Chemistry Europe**, [S.L.] v. 1, n. 16, p. 1682-1696, 2021.
- ABBEHAUSEN, Camilla; FONTES, Josielle V; GALUPPO, Carolina; JÚDICE, Wagner A.S; LIMA Rochanna L.A; MIGUEL Danilo C; SIQUEIRA Fábio S; ROSA, Leticia B; Antileishmanial activity and insights into the mechanisms of action of symmetric Au(I) benzyl and aryl-N-heterocyclic carbenes. **Journal of Inorganic Biochemistry**. [S.L.] v.229, p. 111726. 2022
- ABBEHAUSEN, Camilla. **Síntese de Híbridos de Siloxanos e β -Ciclodextrinas**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Tecnológica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- ABBEHAUSEN, Camilla; FORMIGA, André L. B.; SABADINI, Edvaldo; YOSHIDA, Inez V. P. A- β cyclodextrin/siloxane hybrid polymer: synthesis, characterization and inclusion complexes. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], v. 21, n. 10, p. 1867-1876, 2010.
- BENDER, Myron L; KOMIYAMA Makoto. **Cyclodextrin Chemistry**. Edição 6. New York: Springer Verlag, 1998.
- CIRRI, Damiano; LANDINI, Ida; MASSAI, Lara; MINI, Enrico; MAESTRELLI, Francesca; MESSORI, Luigi. Cyclodextrin Inclusion Complexes of Auranofin and Its Iodido Analog: A Chemical and Biological Study. **Pharmaceutics**, [S.L.] v. 13, n. 5, p. 23-33, 2021.
- FONTES, Josielle Vieira. **Complexos de Cu(I) carbenos-N-heterocíclicos como metalofármacos para doenças tropicais negligenciadas**. 2021. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2022.
- PATIL, Jagadevappa. Inclusion complex system; A novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs: A review. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review And Research**, Karnataka, v.2, n.2, p. 29-33. 2010.
- ROSA, Leticia B.; GALUPPO, Carolina; LIMA, Rochanna L.A.; FONTES, Josielle V.; SIQUEIRA, Fábio S.; JÚDICE, Wagner A.s.; ABBEHAUSEN, Camilla; MIGUEL, Danilo C.. Antileishmanial activity and insights into the mechanisms of action of symmetric Au(I) benzyl and aryl-N-heterocyclic carbenes. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.] v. 229, p. 111726, abr. 2022.
- SHARMA, Neha; BALDI, Ashsh. Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview. **Drug Delivery**, [S.L.]. Online, v. 23, n. 3, p. 729-747. jul. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3109/10717544.2014.938839>.
- SZEJTLI, József. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. **American Chemical Society**, Washington v.98, n.5, p.98-1743. jun. 1998.
- VENTURINI, Cristina de Garcia; NICOLINI, Jaqueline; MACHADO, Clodoaldo; MACHADO, Vanderlei Gageiro. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 360-368, 2008.
- VISBAL, Renso; LAGUNA, Antonio; GIMENO, M. Concepción. Simple and efficient synthesis of [MCI(NHC)] (M = Au, Ag) complexes. **Chemical Communications**, [S.L.]. Online v. 49, n. 50, p. 5642, mai. 2013. Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1039/c3cc42919a>.