Estudos biofísicos e de atividade antiproliferativa de complexos de Ag(I) e Au(I) sobre painel de linhagens de células tumorais

Palavras-Chave: metalofármacos, nucleobases, atividade antitumoral

Autores:

Bruna C. F. Paulino, FCF – UNICAMP

Gabriele M. Pereira, IQ – UNICAMP

Josélia C. O. Moreira, FCF - UNICAMP

Robson Pontes, FCF – UNICAMP

Ana L. T. G. Ruiz, FCF – UNICAMP

João E. de Carvalho, FCF – UNICAMP

Alexandre Cuin – UFJF

Pedro P. Corbi, IQ – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Na medicina, diversos metais têm sido utilizados ao longo da história por diferentes civilizações para o tratamento de condições de saúde. Entre civilizações antigas, o cobre, por exemplo, foi utilizado para a limpeza de ferimentos enquanto a prata fora utilizada para o tratamento de infecções. Atualmente, complexos metálicos são utilizados como metalofármacos tanto no diagnóstico quanto no tratamento de inúmeras doenças, como, por exemplo, o agente antineoplásico cisplatina.[1]

Sob esse aspecto, nosso grupo tem desenvolvido novos candidatos a metalofármacos para diversas aplicações. Dentre eles, reportamos recentemente a síntese, a caracterização química e espectroscópica e a avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro* dos complexos metálicos com análogos de nucleobases: Ag(I)-5FC, Ag(I)-5TFMU, Ag(I)-6TFMU e Au(I)-2TU.[2,3,4] O composto Ag(I)-5FC consiste em um complexo de Ag(I) com o agente antitumoral 5-fluorocitosina (5-FC), enquanto os compostos Ag(I)-5TFMU e Ag(I)-6TFMU são complexos de Ag(I) com, respectivamente, os isômeros 5-(trifluoro)metiluracil e 6-(trifluoro)metiluracil. O Au(I)-2TU, por sua vez, é um complexo de Au(I) com 2-tiouracil (2-TU).[2,3,4]

No contexto da oncologia, os carcinomas de células escamosas (CEC) compõem um tipo de câncer que compromete, principalmente, o epitélio de regiões como as vias aéreas superiores, os pulmões, o esôfago, o trato anogenital e a pele. O desenvolvimento desse conjunto de neoplasias está atrelado ao tabagismo, ao etilismo, a infecção por vírus (como HPV, ou vírus do papiloma humano), a dieta, a fatores ambientais, entre outros. O tratamento, por sua vez, consiste na ressecção cirúrgica e no uso de quimioterápicos.[5]

Na busca por novos fármacos capazes de atuar no tratamento do CEC, o objetivo do projeto consistiu na nova obtenção e na ampliação dos estudos das propriedades químicas e biológicas dos quatro compostos de coordenação de prata(I) e de ouro(I) supracitados.

METODOLOGIA:

Os complexos metálicos de prata(I) foram repreparados, individualmente, segundo a metodologia estabelecida pelo grupo.[2,3] Em quantidades equimolares, os ligantes foram desprotonados em meio aquoso com o auxílio de hidróxido de potássio. Em seguida, se complexaram a prata, proveniente de nitrato de prata, levando a formação dos compostos de coordenação desejados. Os produtos, na forma de precipitados brancos, foram filtrados, lavados com água deionizada e secos em dessecador sob pentóxido de fósforo. Os sobrenadantes das repreparações foram armazenados em baixa temperatura para cristalização.

Em seguida, os três produtos foram caracterizados química e espectroscopicamente por meio de análise elementar (CHN) e espectroscopia no infravermelho (FTIR) com o intuito de verificar a obtenção dos compostos de coordenação.

Ademais, o composto Ag(I)-5FC foi caracterizado por difração de raios X de pó de acordo com a literatura.[7] Os dados da difração de raios X foram coletados em um difratômetro Bruker AXS D8 Advance, equipado com detector Lynxeye, fendas Soller no feixe primário e radiação Cu-Kα (λ = 1,5418 Å), em um intervalo de 2θ de 5-105° com amostragem de 0,02º e tempo de varredura de aproximadamente 16 horas. O composto Ag(I)-5FC foi, ainda, avaliado, segundo metodologia estipulada na literatura[6], quanto a sua atividade antiproliferativa sobre linhagens de carcinomas de células escamosas, a saber: carcinoma de faringe (FaDu) e carcinoma de língua (SCC-25). Os complexos foram testados também sobre uma linhagem saudável (queratinócitos humanos, HaCaT).

Sua atividade antiproliferativa para cada linhagem celular foi expressa em concentração necessária para inibição total da proliferação celular (TGI, μmol/L), e os valores de TGI foram utilizados para determinação dos índices de seletividade (SI) pela fórmula:[4]

$$\mathrm{SI} = \frac{\text{TGI de linhagem celular saudável}}{\text{TGI de linhagem celular tumoral}}$$

A síntese do complexo de ouro(I), baseada na metodologia do grupo[4], deu-se em duas etapas. Na primeira etapa, uma solução de $AgNO_3$ em metanol foi adicionada a uma solução de clorotrifenilfosfinaouro(I) – Ph_3P-Au-Cl – em clorofórmio, levando a eliminação do halogênio de Ph_3P-Au-Cl na forma de AgCl. Em seguida, o sobrenadante da reação química anterior – que continha trifenilfosfinaouro(I) – foi adicionado a um balão de fundo redondo em conjunto com 0,30 mmol de 2-TU, 9 mL de metanol e 1,5 mL de trietilamina. A mistura permaneceu em refluxo por 18 horas, e o complexo Au(I)-2TU foi obtido por evaporação lenta do solvente. Em seguida, o complexo foi separado, lavado com mistura de éter etílico:metanol 1:1 e seco em dessecador sob pentóxido de fósforo.

Assim como no caso dos complexos metálicos de prata(I), o produto foi caracterizado química e espectroscopicamente por meio de análise elementar (CHN) e espectroscopia no infravermelho (FTIR).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As composições elementares dos complexos metálicos de prata(I), obtidas por CHN, são:

- **Ag(I)-5FC ($AgC_4H_5FN_3O_2$):** Calculado: C, 18,9%; H, 1,98%; N, 16,6% – Experimental: C, 19,1%; H, 1,51%; N, 16,5%.
- **Ag(I)-5TFMU ($AgC_5H_2F_3N_2O_2$):** Calculado: C, 20,9%; H, 0,70%; N, 9,76% – Experimental: C, 20,7%; H, 0,37%; N, 9,64%.
- **Ag(I)-6TFMU ($Ag_2C_5HF_3N_2O_2$):** Calculado: C, 15,1%; H, 0,51%; N, 7,10% – Experimental: C, 15,5%; H, 0,22%; N, 7,02%.

- **Au(I)-2TU ([Au($C_4H_3N_2OS$)($C_{18}H_{15}P$)]):** Calculado: C, 45,1%; H, 3,09%; N, 4,78% – Experimental: C, 45,6%; H, 3,46%; N, 3,74%.

Esses valores, em conjunto com os espectros no infravermelho obtidos, quando comparados com a literatura[2,3,4], demonstram a obtenção dos complexos Ag(I)-5FC, Ag(I)-5TFMU, Ag(I)-6TFMU e Au(I)-2TU.

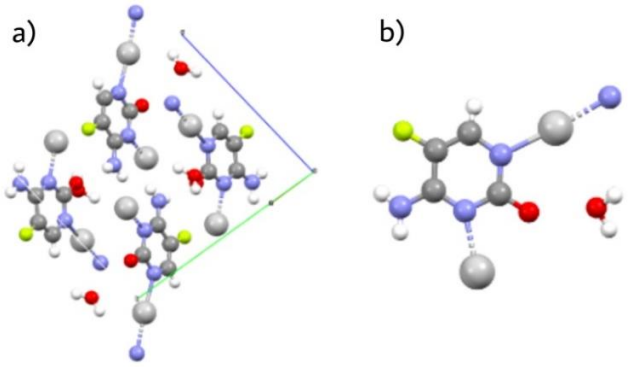

Figura 1. a) Unidades assimétricas de Ag(I)-5FC na cela unitária; b) unidade assimétrica de Ag(I)-5FC. Em cinza escuro, átomos de carbono; em cinza claro, átomos de prata; em azul, átomos de nitrogênio; em verde, átomos de flúor; em vermelho, átomos de oxigênio; e, em branco, átomos de hidrogênio. Fonte: Autores, 2025.

Não foram obtidos monocristais difratáveis dos complexos Ag(I)-5TFMU e Ag(I)-6TFMU. A partir dos estudos por difração de raios X de pó, a estrutura de Ag(I)-5FC foi resolvida (Figura 1). O sistema cristalino de Ag(I)-5FC foi classificado como monoclínico ($a \neq b \neq c$, $\alpha = 90º$; $\beta = 81{,}68938º$; $\gamma = 90º$). As dimensões da cela unitária, que contém 4 unidades assimétricas (Z = 4), são a = 3,730852 Å, b = 18,01511 Å, c = 10,13266 Å.

Na tabela 1, a seguir, são apresentados os resultados da ação antiproliferativa sobre células do complexo Ag(I)-5FC. Os valores são apresentados em função da concentração necessária para inibição total de crescimento celular (TGI, do inglês Tumor Growth Inhibition).

	Ag(I)-5FC	5-FC	AgNO3	Doxo
SCC-25	237 ± 101	> 150	159 ± 67,3	7,18 ± 3,86
FaDu	30,0 ± 15,3	> 150	153*	4,78 ± 0,55
HaCaT	6,48 ± 3,53	> 150	73,2 ± 18,1	> 27,6

Tabela 1. Atividade antiproliferativa expressa como concentração necessária para inibição total da proliferação celular (TGI, µmol/L). *Erro-padrão maior que a concentração efetiva calculada. Doxo: doxorrubicina. Fonte: Autores, 2025.

Os valores de TGI obtidos mostram que o complexo Ag(I)-5FC foi ativo para a linhagem FaDu, porém, não apresentou seletividade frente a célula não tumoral.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram repreparados os complexos de prata(I) e ouro(I) com análogos de nucleobases, os quais caracterizados por análises químicas e espectroscópicas. Cristais difratáveis de Ag(I)-5TFMU e Ag(I)-6TFMU não foram obtidos. No entanto, a estrutura de Ag(I)-5FC foi resolvida por difração raios X de pó. O complexo Ag(I)-5FC foi ativo para a linhagem de carcinoma de faringe (FaDu), com um valor de TGI igual a 30,0 ± 15,0 µmol/L. Estudos complementares estão em andamento para verificar os possíveis alvos celulares (DNA, proteínas) do complexo de prata. Ademais, estudos da ação antiproliferativa do complexo Au(I)-2TU sobre CEC estão em andamento e os resultados serão apresentados futuramente.

AGRADECIMENTOS

A bolsista Bruna Cavalcante Ferreira Paulino agradece ao DEAPE/Unicamp pela bolsa concedida. O Prof. Pedro P. Corbi agradece ao CNPq (Processo 309800/2021-8) e à FAPESP (Processo 2021/10265-8, CEPID CancerThera, Centros de Pesquisa Inovação e Difusão).

BIBLIOGRAFIA

[1] González-Ballesteros, M. M.; Mejía, C.; Ruiz-Azuara, L. Metallodrugs: an approach against invasion and metastasis in cancer treatment. **FEBS Open Bio**, v. 12, n. 5, p. 877-1089, 2022. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13381>.

[2] Pereira et al. Synthesis, spectroscopic characterization, antibacterial activity and antiproliferative profile of a new silver(I) complex of 5-fluorocytosine. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 266, 110096, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2023.110096>.

[3] Pereira et al. Antibacterial profile and antiproliferative activities over human tumor cells of new silver(I) complexes containing two distinct trifluoromethyl uracil isomers. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 262, 112752, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2024.112752>.

[4] Nunes et al. Synthesis, characterization, crystal structure and in vitro antiproliferative assays of the 2-thiouracilato(triphenylphosphine)gold(I) complex. **Journal of Molecular Structure**, v. 1178, p. 169-178, 2019. DOI: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022286018312092?via%3Dihub>.

[5] Henick et al. Squamous cell cancers of the aero-upper digestive tract: A unified perspective on biology, genetics, and therapy. **Cancer Cell**, v. 43, n. 2, p. 178-194, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2025.01.003>.

[6] Candido et al. Silver Nimesulide Complex in Bacterial Cellulose Membranes as an Innovative Therapeutic Method for Topical Treatment of Skin Squamous Cell Carcinoma. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020462>.

[7] Coelho, A. A. Indexing of powder diffraction patterns by iterative use of singular value decomposition. **Journal of Applied Crystallography**, v. 36, p. 86-95, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1107/S0021889802019878>.

[8] TOPAS, Version. 3.0, Bruker AXS, Karlsruhe, Germany, 2005.